



Instituto Politécnico de Tomar

**Escola Superior de Tecnologia de Tomar**

**Márcia Margarida Leitão Rodrigues**

# **PAPEL DOS ANTIOXIDANTES NA OXIDAÇÃO LIPÍDICA DE MAIONESES**

Relatório de Estágio

Orientado por:

Doutora Cecília Baptista – Instituto Politécnico de Tomar

Relatório de Estágio apresentado ao  
Instituto Politécnico de Tomar para cumprimento dos  
requisitos necessários à obtenção do grau de  
Mestre em Tecnologia Química







## RESUMO

---

Este trabalho pretende estudar o efeito dos principais fatores causadores de oxidação lipídica em maioneses e consequente rancificação, num contexto de indústria alimentar, e formas de evitar este fenómeno, nomeadamente através da introdução de antioxidantes. Os antioxidantes ensaiados foram principalmente de origem natural, numa tentativa de substituir o antioxidante sintético EDTA e os fatores pro-oxidantes estudados foram o teor de óleo presente, a qualidade da água, a temperatura do óleo e o volume de headspace.

Foram produzidas laboratorialmente maioneses de três tipos diferentes no que diz respeito ao teor de óleo, nomeadamente maioneses *low-fat*, *medium-fat* e *fat*, que foram analisadas ao longo do tempo de armazenamento (4 meses em condições ambientais simples e um período de acondicionamento em câmara climática para permitir um envelhecimento acelerado e análises aos 7 e 9 meses). Estas maioneses foram analisadas em termos de Índice de Peróxidos, Índice de p-Anisidina e por provas sensoriais, de forma a detetar e avaliar o desenvolvimento de oxidação lipídica ao longo do tempo de prateleira.

Deste trabalho concluiu-se que em maioneses *low-fat* e *medium-fat*, as misturas de tocoferóis com antioxidantes quelantes de metais permitem obter resultados equiparáveis aos obtidos com o antioxidante sintético EDTA. No entanto em maioneses *fat*, nenhum antioxidante natural apresenta melhor capacidade antioxidantes do que este.

**Palavras-chave:** Maioneses, Oxidação Lipídica, Rancificação, Antioxidantes, Índice de Peróxidos, Índice de p-Anisidina

---



## ABSTRACT

---

This work intends to study the main factors responsible for the lipid oxidation and rancidity in mayonnaise, in a food industry context, and ways to avoid this phenomenon, namely through the addition of antioxidants. The tested antioxidants were mainly of natural origin in an attempt to replace the synthetic antioxidant EDTA, and the pro-oxidant factors studied were the oil content, water quality, oil temperature and headspace volume.

Three different mayonnaise types were laboratory produced, regarding oil content, namely low-fat, medium-fat and fat mayonnaises, which were analyzed over the storage time (4 months under simple environmental conditions and during a period in a climatic chamber to allow an accelerated aging and analysis at 7 and 9 months). These mayonnaises were then analysed in terms of Peroxide Value, p-Anisidine Value and by sensorial tests, in order to detect and evaluate the lipid oxidation development throughout the storage time.

From this work it was concluded that in low-fat and medium-fat mayonnaise, mixtures of tocopherols with metal-chelating antioxidants yield results close to those obtained with the synthetic antioxidant EDTA. However, in fat mayonnaises, no natural antioxidant has better antioxidant capacity than this one.

**Keywords:** Mayonnaise, Lipid Oxidation, Rancidity, Antioxidants, Peroxide Value, p-Anisidine Value

---





## AGRADECIMENTOS

---

Não poderia concluir este relatório de estágio sem agradecer a todos aqueles que me ajudaram no decorrer deste trabalho.

Em primeiro lugar agradeço ao IPT por possibilitar a realização deste trabalho e por disponibilizar o material necessário e os laboratórios utilizados ao longo do trabalho prático.

Em especial, agradeço à orientadora Professora Doutora Cecília Baptista por se ter mostrado sempre disponível a ajudar e incansável, quer no processo de obtenção do estágio, quer no decorrer do mesmo.

Agradeço à empresa Mendes Gonçalves, SA por me proporcionar a realização deste estágio, por me acolherem tão bem e por facultarem as instalações e equipamentos necessários ao trabalho. Uma palavra especial de apreço à coordenadora na empresa, Ana Tasso Rosa por todo o tempo e trabalho que me dispensou, pela ajuda e pelos ensinamentos que me transmitiu.

Tenho também que agradecer a toda a restante equipa do departamento de IDI, nomeadamente à Marta, Olga, Joana, Nuno, Diogo, Janina, João, Inês, Cristiano, e um agradecimento especial às colegas de luta, Rita e Bárbara. A todos agradeço pelo acolhimento, ajuda infindável, aprendizagem e companheirismo.

Deixo ainda um sincero agradecimento à Eng.<sup>a</sup> Isabel Silva e ao Eng.<sup>o</sup> Alcino Serras por me acompanharem na vertente experimental levada a cabo nas instalações do Instituto Politécnico de Tomar.

Por último agradeço o apoio dos amigos e família e deixo uma palavra de apreço a todos os colegas e docentes que contribuíram para a minha formação durante este ciclo de estudos que agora termino.

---



# ÍNDICE

## RESUMO

## ABSTRACT

## AGRADECIMENTOS

Índice de Figuras .....	V
Índice de Tabelas .....	IX
Lista de Abreviatura e Siglas.....	XI
1    Introdução.....	1
1.1    A Empresa.....	1
1.2    Enquadramento do Trabalho.....	2
1.3    Objetivos .....	2
1.4    Processo Produtivo de Maionese .....	3
2    Revisão Bibliográfica .....	5
2.1    Emulsões .....	5
2.2    Maionese .....	6
2.3    Oxidação Lipídica.....	9
2.3.1    Índice de Peróxidos (PV) .....	15
2.3.2    Índice de p-Anisidina (IpA) .....	16
2.4    Antioxidantes .....	17
2.4.1    O Paradoxo Polar .....	17

2.4.2	Teoria do “Efeito Cut-off” .....	18
2.4.3	Antioxidantes Sintéticos .....	19
2.4.4	Antioxidantes Naturais.....	21
3	Metodologia .....	27
3.1	Produção de Maioneses .....	27
3.1.1	Efeito de antioxidantes.....	27
3.1.2	Efeito de outros fatores .....	30
3.2	Armazenagem.....	33
3.3	Análises Físico-Químicas .....	34
3.4	Provas Organoléticas .....	35
3.5	Determinação de Índice de Peróxidos (PV) .....	36
3.5.1	Óleos .....	36
3.5.2	Maioneses .....	37
3.6	Determinação do Índice de p-Anisidina (IpA) .....	40
4	Resultados e Discussão .....	43
4.1	Estudo de Antioxidantes .....	43
4.1.1	Maionese Low-fat .....	43
4.1.2	Maionese Medium-fat .....	48
4.1.3	Maionese Fat .....	51
4.2	Condições de Produção e Armazenamento .....	55
4.2.1	Temperatura do óleo e Headspace .....	55

4.2.2	Qualidade da água .....	59
5	Conclusões e Sugestões .....	63
6	Bibliografia.....	67
	Anexos.....	77
	Anexo I – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses Low-fat – Estudo de antioxidantes - LAox .....	77
	Anexo II – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses Medium-fat - Estudo de antioxidantes - MAox .....	79
	Anexo III – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses Fat – Estudo de antioxidantes - FAox.....	81
	Anexo IV – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses Low-fat – Estudo da temperatura do óleo e headspace - LOT .....	83
	Anexo V – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses Medium-fat – Estudo da temperatura do óleo e headspace – MOT .....	85
	Anexo VI – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses fat – Estudo da temperatura do óleo e headspace – FOT.....	87
	Anexo VII – Resultados de Análises Físico-químicas nas Maioneses com Água Tratada.....	89



## Índice de Figuras

Figura 1 - Diagrama de Blocos simplificado, representativo do processo de produção de maioneses na MG. (E.P.) .....	4
Figura 2 – Estrutura microscópica da maionese .....	7
Figura 3 - Fórmula estrutural simplificada do ácido linoleico.....	13
Figura 4 - Possível mecanismo reacional de oxidação lipídica do ácido linoleico. Adaptado de: “A Rancidez Oxidativa em Alimentos,” 2010. ....	13
Figura 5 - Esquema integrado de diferentes caminhos possíveis de oxidação lipídica. Fonte: Schaich (2005).....	14
Figura 6 – Reação global da p-anisidina com aldeídos insaturados, em meio ácido, dando origem a compostos de cor amarela. Fonte: Schaich (2016). ....	16
Figura 7 - Efeito e localização de antioxidantes polares e apolares em emulsões de óleo em água e em óleo. Adaptado de: Laguerre, et al. (2015). ....	18
Figura 8 - Diagrama dos fatores estudados durante o trabalho, maioneses produzidas e codificação utilizada. ....	33
Figura 9 - Escala de classificação usada nas provas organoléticas realizadas. (E.P)	35
Figura 10 - Exemplo do registo fotográfico efetuado para as maioneses, neste caso no estudo de antioxidantes em maionese fat- FAox. ....	36
Figura 11 - Resultados de algumas tentativas de quebra de emulsão para separação de óleo. ....	39
Figura 12 - Resultado do método de separação de fases construído neste trabalho, antes e após a centrifugação.....	40

Figura 13 - Representação gráfica da evolução do índice de peróxidos nas maioneses low-fat, no estudo de antioxidantes. A tracejado apresentam-se os resultados obtidos em estufa. .... 43

Figura 14 - Representação gráfica da variação do Índice de p-Anisidina ao longo do tempo em maioneses low-fat. A tracejado são apresentados os resultados obtidos em estufa. .... 45

Figura 15 - Representação gráfica do valor de TOTOX, ao longo do tempo para maioneses low-fat. A tracejado são apresentados os valores obtidos no estudo acelerado em estufa. .... 46

Figura 16 - Variação da percepção de sabor ao longo dos meses nas maioneses Low-fat. Escala: 1 – Extremamente alterado; 7 – Nada Alterado. .... 47

Figura 17 - Representação gráfica do comportamento de antioxidantes nas maioneses medium-fat, avaliado em Índice de Peróxidos. A tracejado apresentam-se os resultados obtidos após envelhecimento acelerado em estufa. .... 48

Figura 18 - Representação gráfica dos resultados obtidos para o Índice de Anisidina para as maioneses medium-fat, para o estudo de antioxidantes. .... 49

Figura 19 - Representação gráfica dos valores de TOTOX registados pelas maionese medium-fat, ao longo do tempo. .... 50

Figura 20 - Variação da percepção de sabor ao longo dos meses nas maioneses medium-fat. Escala: 1 – Extremamente alterado; 7 – Nada Alterado ..... 51

Figura 21 - Representação gráfica da variação do índice de peróxidos ao longo do tempo nas maioneses Fat, para o estudo de antioxidantes. .... 52

Figura 22 - Representação gráfica dos Índices de p-Anisidina obtidos para as maioneses Fat. .... 53

Figura 23 - Avaliação do sabor das maioneses Fat. Escala: 1- Extremamente alterado; 7 - Nada alterado. .... 54



Figura 24 - Representação gráfica dos resultados de Índice de Peróxido obtidos nos estudos da influência da temperatura e headspace nas maioneses Low-fat. .... 56

Figura 25 - Representação gráfica dos resultados de PV obtidos no estudo da influência da temperatura do óleo e headspace em maioneses medium-fat. .... 57

Figura 26 - Representação da evolução de PV em maioneses com 80% de óleo, avaliando a influência da temperatura do óleo utilizado e o tamanho do headspace da embalagem..... 58

Figura 27 - Representação gráfica do Índice de Peróxidos obtidos para maioneses L, M e F, produzidas com água tratada, em comparação com maioneses de controlo, semelhantes, mas produzidas com água não tratada..... 59

Figura 28 - Representação gráfica dos resultados da avaliação da evolução de sabor em maioneses..... 61



## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Lista de antioxidantes e conjugação de antioxidantes utilizados na produção de maioneses, compostos ativos e respetivo teor utilizado. ....	29
--	----

Tabela 2 - Massa da toma de ensaio a efetuar e precisão de pesagem. Fonte: NP EN ISSO 3960:2004. ....	36
---	----



## Lista de Abreviatura e Siglas

A/L/T	Ácido Ascórbico, Lecitina e Tocoferóis
Abs	Absorvância
AnT	Água não Tratada
AT	Água Tratada
BHA	Butil-hidroxianisole
BHT	Butil-hidroxitolueno
CC	Câmara Climática
EDTA	Ácido Etilenodiaminatetracético
E. P.	Elaboração Própria
F	Maionese <i>fat</i> , com 78% de óleo
IpA	Índice de p-Anisidina
L	Maionese <i>Low-fat</i> , com 24% de óleo
M	Maionese <i>Medium-fat</i> , com 65% de óleo
MG	Mendes Gonçalves, S.A.
NP	Norma Portuguesa
O/W	Óleo em água
OTatm	Teste da temperatura do óleo, óleo a temperatura ambiente
OTq	Teste da temperatura do óleo, óleo a 40°C
PME	Pequenas e Médias Empresas
PV	Índice de Peróxidos
rpm	Rotações por minuto
TBHQ	<i>terc</i> -butil-hidroquinona
TOTOX	Valor Total de Oxidação
W/O	Água em óleo



# 1 Introdução

## 1.1 A Empresa

A Mendes Gonçalves e Filhos, Lda. nasceu em 1982 na Golegã com uma produção inovadora de vinagre de figo, oriundo de culturas locais. A base da empresa desde sempre foi a inovação e o empenho, o que permite que presentemente produza centenas de produtos diferentes, seja uma das empresas mais procuradas pelas principais marcas de distribuição nacionais, e a selecionada como fornecedora certificada por algumas das maiores marcas do Mundo.

Atualmente, com o nome Mendes Gonçalves, SA (MG), dedica-se à produção de vinagres, molhos e temperos e neste momento tem três marcas próprias, a Paladin de venda ao público, a Peninsular orientada para a restauração e a Creative, marca de vinagres Gourmet. Para além das marcas próprias a empresa é representante de outras marcas internacionais como a Gran Cucina, Reine De Dijon, Acetum, Sotaroni e Blaze.

A Mendes Gonçalves, SA está presente em 28 países e emprega mais de 200 trabalhadores. Esta empresa tem sido galardeada com vários prémios nacionais e internacionais mais recentemente recebeu a distinção de PME Líder, foi reconhecida na Rede PME Inovação da Cotec Portugal e foi considerada a Melhor Empresa para Trabalhar da Revista Exame em 2012. Tem também sido feita uma aposta em certificações internacionais, sendo detentora de certificados como ISO 9001, ISO 22000 no campo dos vinagres, certificado HALAL pela Comunidade Islâmica de Lisboa, certificado Kosher pelo Comité de Kashrut-Portugal e Certificado de Conformidade com a NP 4457 pela IPAC (Mendes Gonçalves, s.d.).

No ano de 2017 mereceu uma entrada no “Top 10 Empresas Mais Felizes em Portugal”, da Happiness Works (Costa, 2017).

## 1.2 Enquadramento do Trabalho

O presente trabalho foi realizado sob orientação na empresa da Mestre Ana Tasso Rosa e, no IPT, da Doutora Cecília Baptista, na modalidade de estágio, e faz parte integrante do ciclo de estudos conducentes ao grau de Mestre em Tecnologia Química, atribuído pela Escola Superior de Tecnologia de Tomar, do Instituto Politécnico de Tomar.

O estágio decorreu entre janeiro e julho de 2017, na empresa Mendes Gonçalves, SA. O trabalho proposto pela empresa e desenvolvido focou-se no estudo da oxidação lipídica de maioneses, tendo sido realizado maioritariamente no departamento de Investigação, Desenvolvimento e Inovação da empresa. Alguns ensaios foram realizados no lab.ipt, nomeadamente a determinação do índice de peróxidos e de p-anisidina.

## 1.3 Objetivos

Este trabalho teve como objetivo compreender e minimizar os processos de oxidação lipídica de maioneses produzidas na empresa pelo estudo do efeito de diferentes antioxidantes sobre o fenómeno da rancificação destes produtos.

O principal objetivo foi estudar maioneses com diferentes antioxidantes, fazer o acompanhamento sensorial, físico-químico e analítico de forma a detetar o desenvolvimento de oxidação lipídica, e posterior rancificação, e selecionar o antioxidante que melhor se adequa ao produto.

Em primeiro lugar levou-se a cabo a produção à escala piloto de várias maioneses com diferentes antioxidantes de modo a avaliar aquele que melhor se adequa ao pretendido.

De forma a ter em conta o comportamento dos antioxidantes em maioneses com diferentes teores de óleo, os diferentes antioxidantes foram introduzidos na formulação de três tipos básicos de maioneses: *low-fat*, *medium-fat* e *fat* ou *real mayonnaise*, o que corresponde, respetivamente, a maioneses com 24%, 65% e 78% de óleo.

Para avaliar outros fatores importantes para a oxidação lipídica, foram produzidas outras maioneses com características especiais, nomeadamente, em termos de temperatura



do óleo utilizado, do volume do headspace deixado disponível no enchimento da embalagem e da qualidade da água utilizada na respetiva produção.

Todas as emulsões efetuadas foram acompanhadas e analisadas mensalmente, ao longo de quatro meses. Por não ser possível efetuar um acompanhamento mais alargado devido à duração do estágio, em paralelo foram introduzidas amostras de cada maionese em estufa, ou câmara climática, permitindo simular um armazenamento acelerado de 7 e 9 meses e, desta forma, possibilitar um acompanhamento físico-químico e sensorial antecipado.

O acompanhamento foi feito por provas sensoriais e análises físico-químicas gerais e específicas para deteção de rancificação. A prova sensorial envolve a avaliação pelo operador do sabor, odor, aspecto e aceitabilidade geral do produto.

Os parâmetros físico-químicos controlados foram:

- pH
- Acidez titulável
- Viscosidade
- Cor ( $L^*a^*b^*$ )
- Índice de Peróxidos (PV)
- Índice de p-Anisidina (IpA)

#### 1.4 Processo Produtivo de Maionese

O processo produtivo de maioneses na MG, de modo geral, segue o diagrama de blocos apresentado na Figura 1 onde se mostra que, com o auxílio de um aparelho homogeneizador, a frio, é criada uma dispersão de gotículas de óleo em água, com o ovo como elemento emulsificante e com a adição de outros ingredientes como o vinagre, também produzido na MG. Após a formação da emulsão na maionese esta segue para embalamento, que é efetuado, muitas vezes, em embalagens de PET produzidas noutra fábrica da empresa, e posteriormente é armazenada e expedida para o cliente.

Para além dos elementos referidos anteriormente, que são essenciais para a formação de qualquer maionese, podem ser introduzidos na receita outros ingredientes como amidos, aromas, especiarias e corantes.

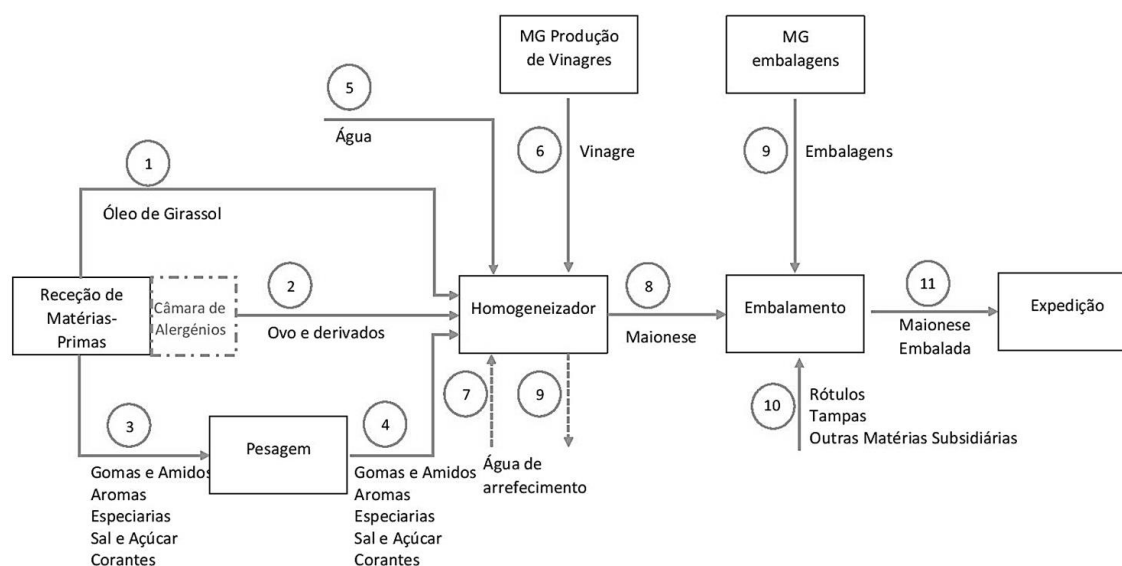


Figura 1 - Diagrama de Blocos simplificado, representativo do processo de produção de maioneses na MG. (E.P.)

## 2 Revisão Bibliográfica

### 2.1 Emulsões

Uma emulsão é um sistema heterogêneo, composto por uma mistura de líquidos imiscíveis ou parcialmente imiscíveis, sendo que um dos líquidos é disperso no seio do outro, formando gotículas com diâmetro superior a 1  $\mu\text{m}$ . As duas fases que a constituem são classificadas como contínua e dispersa, sendo a fase que forma gotículas a fase dispersa. Ao misturar dois líquidos imiscíveis é natural que estes se separem com o passar do tempo, fenómeno intitulado de quebra da emulsão. Para que esta separação não aconteça imediatamente adiciona-se à mistura um composto tensioativo, que neste contexto é vulgarmente chamado de emulsionante (Hiemenz & Rajagopalan, 1997; Mackson & Singh, 1991).

Compostos tensioativos são moléculas constituídas por uma extremidade hidrofóbica e outra hidrofílica. Esta propriedade anfifílica permite que o emulsionante forme uma ponte entre a fase aquosa (polar) e orgânica (apolar), permitindo a dispersão de uma fase na outra e a estabilidade da emulsão ao longo do tempo (Smith & Hui, 2004). No entanto, não existem emulsões eternas, isto é, todas as emulsões, mais cedo ou mais tarde, acabam por quebrar. A quebra de emulsão processa-se em dois passos, floculação e coalescência. Na floculação dá-se a formação de agregados de gotículas e quando estas gotículas se fundem, formando gotículas maiores, dá-se a coalescência. A formação de grandes gotas de fase dispersa proporciona a separação de fases, isto é, a quebra da emulsão. A quebra pode ser causada por vários fatores como temperatura, vibração, choque, agitação e congelamento (Mackson & Singh, 1991).

De modo geral, todas as emulsões são sistemas compostos por uma fase aquosa e outra fase orgânica. Assim, existem dois tipos principais de emulsão, emulsões óleo-em-água (O/W - Oil in water) e emulsões água-em-óleo (W/O - Water in oil). Esta classificação depende da estrutura da emulsão, nomeadamente, de qual é a fase contínua e qual é a fase dispersa. No caso em que o óleo se encontra disperso em água, a fase dispersa é o óleo e a fase contínua é a água, estamos, portanto, perante uma emulsão O/W. No caso contrário trata-se de uma emulsão W/O (Shaw, 1992).

As diferentes configurações microscópicas das emulsões W/O e O/W refletem-se em diferentes características macroscópicas. Por exemplo, emulsões W/O normalmente têm uma textura gordurosa (ex.: margarina) e as emulsões O/W têm uma textura cremosa (ex.: leite) (Shaw, 1992).

## 2.2 Maionese

A maionese consiste numa emulsão óleo-em-água (O/W) em que a fase contínua (água) está presente em menor proporção, sendo a emulsão constituída até 80% por óleo. Trata-se de um sistema alimentar usado como condimento ou base para molhos, composto fundamentalmente por três componentes, sendo eles o óleo alimentar em gotículas, a água na fase contínua e um emulsionante localizado na interface. Uma maionese comercial típica tem ainda outros ingredientes como vinagre, sal, açúcar e outros condimentos como pimenta e mostarda. Maioneses com teores de gordura reduzidos, principalmente a chamada maionese *Low-fat*, necessitam da adição de outros ingredientes como gomas e amidos, de forma a manterem a estabilidade e consistência específica de maionese (Gorji, Smyth, Sharma, & Fitzgerald, 2016; Charlotte Jacobsen, 2016).

Este condimento tem um aspeto brilhante, opaco e cremoso, uma cor amarela muito pálida e tem uma textura altamente viscosa, sendo por vezes caracterizado como um semissólido. A viscosidade deste sistema é resultado de uma mistura cuidadosa dos ingredientes a velocidades específicas que permitam uma disseminação correta do óleo de forma a obter-se uma boa dispersão das gotículas (Depree & Savage, 2001; Duncan, 2004; Hsieh & Regenstein, 1991).

### Óleo

O componente principal da maionese e principal veículo da oxidação lipídica é o óleo. Este é o elemento com maior custo na produção da emulsão, sendo que a qualidade do óleo utilizado é um parâmetro muito importante para a qualidade do produto final, devendo ter um índice de peróxidos inferior a 1 quando introduzido na emulsão. Os óleos vegetais comercializados podem conter componentes minoritários como tocoferóis, carotenóides e

compostos fenólicos, facto que acontece mesmo nos óleos refinados. Estes componentes são antioxidantes naturais que impedem a oxidação lipídica (Berton-Carabin, Ropers, & Genot, 2014; Smith & Hui, 2004; Tasan & Demirci, 2005).

O óleo deve ser adicionado à mistura aquosa, já com o emulsionante, lentamente e deve ser passado por um moinho coloidal ou homogeneizador, de forma a formar gotículas microscópicas, na ordem de grandeza dos micrómetros como pode ser visto na Figura 2 onde se observa o empacotamento de gotículas de óleo na emulsão (Gray, D.M., 1927; Jacobsen, Hartvigsen, et al., 1999).

A emulsão cria-se quando o óleo é disperso em finas gotículas no seio da fase aquosa; esta emulsão é, no entanto, muito instável visto que a tendência desta mistura é formar duas fases distintas, sobrepostas, de modo a obter-se a menor área de contacto. Numa emulsão, normalmente, a fase contínua é formada pelo elemento em maior percentagem, enquanto a fase dispersa é composta pelo elemento presente em maior quantidade. Na maionese acontece o oposto, visto que o componente maioritário, o óleo, é a fase dispersa, e é este componente que é disperso em gotículas. Este facto aumenta a instabilidade da emulsão aumentando a tendência a existir a sua quebra e, conseqüentemente, separação de fases (Coupland & McClements, 1996; Duncan, 2004).

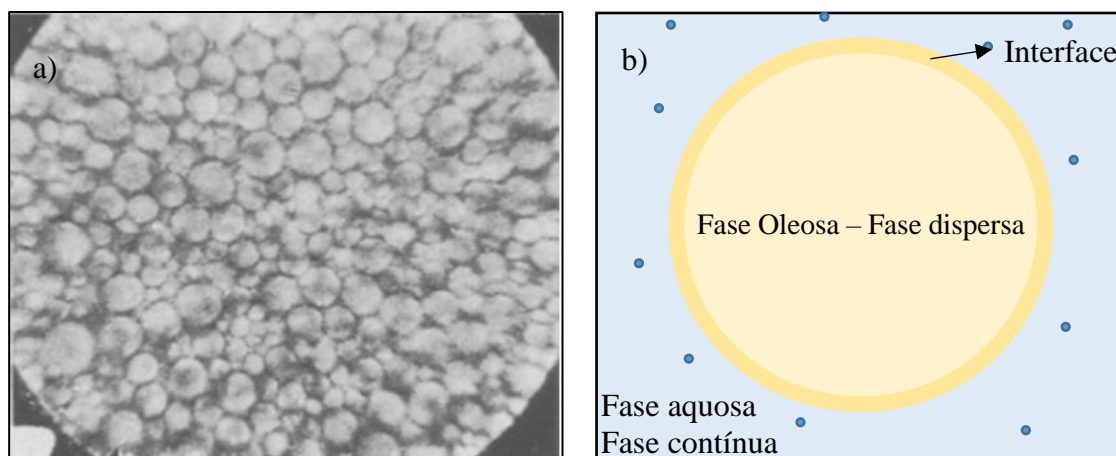


Figura 2 – Estrutura microscópica da maionese

a) Microfotografia de uma maionese, onde se observa o empacotamento de gotículas de óleo. Fonte: Gray, D. M. (1927) .

b) Representação esquemática das fases presentes numa emulsão do tipo maionese. (E. P.)

Na produção de maioneses pode utilizar-se óleo vegetal extraído de soja, girassol, colza, palma entre outros. Na escolha do óleo a utilizar há que ter em conta a sua composição

em termos de ácidos gordos. Ácidos gordos saturados, como ácido palmítico e esteárico, estão apontados como prejudiciais à saúde e a comunidade médica aconselha preferencialmente a ingestão de ácidos gordos insaturados, principalmente os chamados omega-3, 6 e 9. No grupo de óleos ricos em ácidos gordos saturados encontra-se o óleo de palma, de amendoim e de coco. Por outro lado, as ligações insaturadas dos ácidos gordos são propensas à oxidação e consequente rancificação, sendo que ácidos gordos polinsaturados, como o ácido linolénico (três ligações duplas), são mais propensos à oxidação que ácidos gordos monoinsaturados (ácido oleico) e di-insaturados (ácido linoleico). Desta forma, devem ser preferidos óleos com maior concentração de ácidos gordos mono ou di-insaturados e baixa concentração de ácidos gordos saturados (Aladedunye & Przybylski, 2013; Schaich, 2016).

### **Emulsionante**

De forma a estabilizar a emulsão é necessário adicionar um emulsionante. Um emulsionante, por ser um tensioativo, adsorve à superfície das gotículas de óleo recentemente formadas, na interface entre as duas fases imiscíveis (Figura 2-b) reduzindo a tensão interfacial entre estas e permitindo o contacto. De modo geral, o emulsionante utilizado na produção de maioneses é o ovo e é adicionado à fase aquosa antes da adição do óleo para permitir a formação da emulsão. Este alimento funciona como emulsionante por conter proteínas anfifílicas como a caseína e fosfolípidos como a lecitina, moléculas estas com partes polares e apolares que permitem a interação entre a fase aquosa e a lipídica (Coupland & McClements, 1996; Duncan, 2004).

### **Outros Ingredientes**

A maionese comercial tem, habitualmente, um pH entre 3,6 e 4 graças à introdução de vinagre, fornecedor de ácido acético, e outros reguladores de acidez como ácido cítrico e concentrados de limão. O vinagre é um ingrediente importante na formulação da maionese comercial, compondo até cerca de 10% do peso de uma maionese. É, portanto, muito responsável pelo sabor característico deste produto (Altunkaya, et al., 2013; Duncan, 2004).

A dissolução de sal e açúcar na fase aquosa da maionese, para além de dar sabor a esta, diminui a atividade aquosa do produto, o que, associado ao pH reduzido diminui os riscos de contaminação por microrganismos (Duncan, 2004).

## 2.3 Oxidação Lipídica

A deterioração da maionese pode dar-se por dois processos: pela decadência do agente emulsionante, o que leva à quebra da emulsão, ou pelo desenvolvimento de ranço na fase lipídica, causando o aparecimento de odores e sabores indesejáveis (Kilgore, 1932).

A oxidação lipídica é um dos maiores problemas envolvendo gorduras na indústria alimentar uma vez que leva à formação de sabores e odores específicos que promovem a deterioração dos produtos e pode levar à formação de produtos tóxicos e carcinogénicos como peróxidos lipídicos e propanodial (Coupland & McClements, 1996; Embuscado, 2015).

Os principais fatores influenciadores da estabilidade oxidativa dos lípidos em alimentos são a composição do ácido gordo, a presença de oxigénio, a temperatura e a presença de água e de metais de transição.

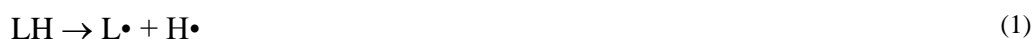
O desenvolvimento de ranço resulta da oxidação lipídica e dá-se no seio de gorduras e sistemas alimentares que contenham gorduras, como é o caso da maionese. A oxidação dos lípidos causa mudanças ao nível molecular, nomeadamente em ácidos gordos e vitaminas, que se refletem em alterações de características importantes como o sabor, textura e valor nutricional. Estas alterações afetam a qualidade do produto e comprometem a validade do mesmo (Embuscado, 2015; McClements & Decker, 2000).

A oxidação afeta especialmente ácidos gordos insaturados uma vez que as ligações duplas são mais reativas do que ligações simples. Este fenómeno dá-se por reações radicalares em cadeia que envolvem iniciação, propagação e terminação. É um processo autocatalítico, porque, quando se dá início ao desenvolvimento de ranço, dá-se a propagação e aceleração do fenómeno de forma autónoma (Coupland & McClements, 1996; Schaich, 2005).

## Iniciação

A fase de iniciação da reação em cadeia dá-se na presença de iniciadores capazes de desencadear a reação. Pensa-se que os principais iniciadores são a luz, temperatura, metais de transição e radicais-livres, sendo estes últimos, espécies químicas altamente reativas e instáveis, que originam reações em cadeia.

A iniciação dá-se segundo a equação (1), no entanto esta reação apenas se dá na presença de catalisadores que permitam a reação homolítica. Estes iniciadores promovem a libertação de um átomo de hidrogénio de uma posição alílica num ácido gordo insaturado, formando-se um radical livre alquilo ( $L\bullet$ ) que na presença de oxigénio molecular reage rapidamente com este para formar um radical peróxido (Berton-Carabin, et al., 2014; Schaich, 2016).



Os metais de transição são importantes catalisadores da oxidação por permitirem diferentes estados de oxidação, especialmente o ferro, cobre, cobalto, manganês, magnésio e vanádio. Estes metais são eficazes a desencadear as reações em cadeia mesmo em quantidades vestigiais e diminuem o valor nutricional dos ingredientes na maionese, o que faz destes compostos um grande problema para a indústria alimentar. Pensa-se que a reação com os metais de transição pode seguir dois mecanismos, podendo o metal (M) reagir diretamente com o ácido gordo (LH) como descrito na equação (2) ou reagir com o oxigénio molecular, que depois reagirá com o lípido, como apresentado nas equações (3) e (4) (Gorji, et al., 2016; Schaich, 2005).



Desta forma é importante evitar o uso, em produtos ricos em gordura, de águas que contenham estes metais. Outra forma de minimizar as contaminações com metais de transição é impedir o contacto dos produtos com tubagens de ferro, cobre e latão, dando



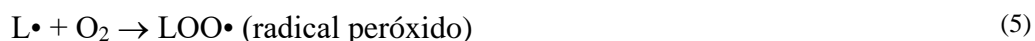
preferência sempre ao uso de alumínio. Finalmente, pode reduzir-se o impacto destes compostos ao usar substâncias antioxidantes com capacidade para quelar este tipo de metais (Schaich, 2005).

A temperatura também afeta gravemente a estabilidade oxidativa dos produtos lipídicos, fornecendo energia ao sistema e catalisando as reações de oxidação. Assim, é importante manter os produtos a temperaturas reduzidas. Os hidroperóxidos são especialmente instáveis a temperaturas superiores a 40°C e decompõem-se muito rapidamente (Gorji, et al., 2016; Schaich, 2016).

Já a exposição à luz aumenta a oxidação lipídica principalmente numa fase mais avançada por decomposição de hidroperóxidos e formação de radicais livres pela luz ultravioleta. No caso da luz visível, esta atua em associação com outros catalisadores sobre ligações insaturadas de ácidos gordos, oxidando estas moléculas e formando radicais livres. Estes catalisadores são, por exemplo, moléculas fotossensíveis presentes naturalmente nos óleos vegetais como clorofila e riboflavinas. No entanto, nem todos os comprimentos de onda da radiação visível têm o mesmo efeito na oxidação lipídica, sendo especialmente problemáticos aqueles que se encontram na gama entre os 325nm e os 470 nm. Esta gama, no entanto, corresponde no espectro visível à luz azul e violeta, sendo a luz azul a mais utilizada nas superfícies comerciais, influenciando a qualidade dos alimentos. Desta forma, aconselha-se que os produtos ricos em gorduras sejam resguardados da luz, especialmente as amostras destinadas a análise, de forma a minimizar a oxidação lipídica (Berton-Carabin, et al., 2014; Depree & Savage, 2001; Gorji, et al., 2016; Schaich, 2016).

### **Propagação**

Esta é a fase principal da oxidação lipídica uma vez que é a fase em que se dá a maioria das reações em cadeia. A propagação dá-se pela reação do oxigénio com radicais alquilo de ácidos gordos formados na iniciação e relativamente pouco reativos. Nesta reação formam-se radicais peróxido, como é ilustrado na equação (5). São estes radicais peróxidos, altamente reativos, que dão início às reações em cadeia (Schaich, Shahidi, Zhong & Eskin, 2013).



Na propagação os radicais peróxido formados anteriormente interagem com moléculas de ácidos gordos retirando um hidrogénio de uma posição alílica formando hidroperóxidos e radicais alquilo, como descrito na equação (6) (Antolovich, Prenzler, Patsalides, McDonald & Robards, 2002; Gray, J. I., 1978).

Por sua vez, cada radical alquilo formado, em contacto com oxigénio, terá tendência a formar novos radicais peróxido. Esta reação cíclica ocorre até que não haja hidrogénio disponível ou até que a cadeia seja interrompida (Schaich, 2005; Schaich, et al., 2013).



Para além da influência que os radicais alquilo têm nas reações em cadeia, os hidroperóxidos formados são também suscetíveis de ser decompostos em outros radicais livres, pela ação de catalisadores como metais, calor e radiação UV, acelerando a oxidação lipídica. Com cada reação envolvendo radicais dá-se a formação de um novo radical que continuará a propagação até que se dê a terminação (Schaich, et al., 2013).

### **Terminação**

Na terminação os radicais livres formados na fase de propagação reagem entre si para formar compostos não radicalares. Os compostos resultantes são espécies estáveis como álcoois, alcanos, éteres e cetonas (equações (7), (8) e (9)) que são considerados como produtos secundários de oxidação (Gorji, et al., 2016; Gray, J. I., 1978).



Tomando o caso do ácido linoleico, principal constituinte do óleo de girassol, cuja nomenclatura abreviada é dada por C18:2, ou seja, trata-se de um ácido gordo com dezoito



O radical peróxido reage depois com outro ácido gordo para formar um hidroperóxido que é considerado um produto primário da oxidação. O hidroperóxido não apresenta qualidades depreciativas para o produto, não emitindo sabor ou odor particular, no entanto trata-se de um produto instável com tendência para reagir com o ião ferroso e levando à formação de produtos secundários como aldeídos, cetonas, álcoois e epóxidos que contribuem para o aparecimento de odores e sabores característicos da rancificação (Schaich, 2016).

Embora a oxidação lipídica passe sempre pela formação de radicais peróxido, as reações de oxidação podem seguir diferentes mecanismos. A Figura 5 ilustra a complexidade dos mecanismos de oxidação conducentes ao desenvolvimento de ranço, existindo uma imensidão de caminhos reacionais possíveis (Schaich, 2005).

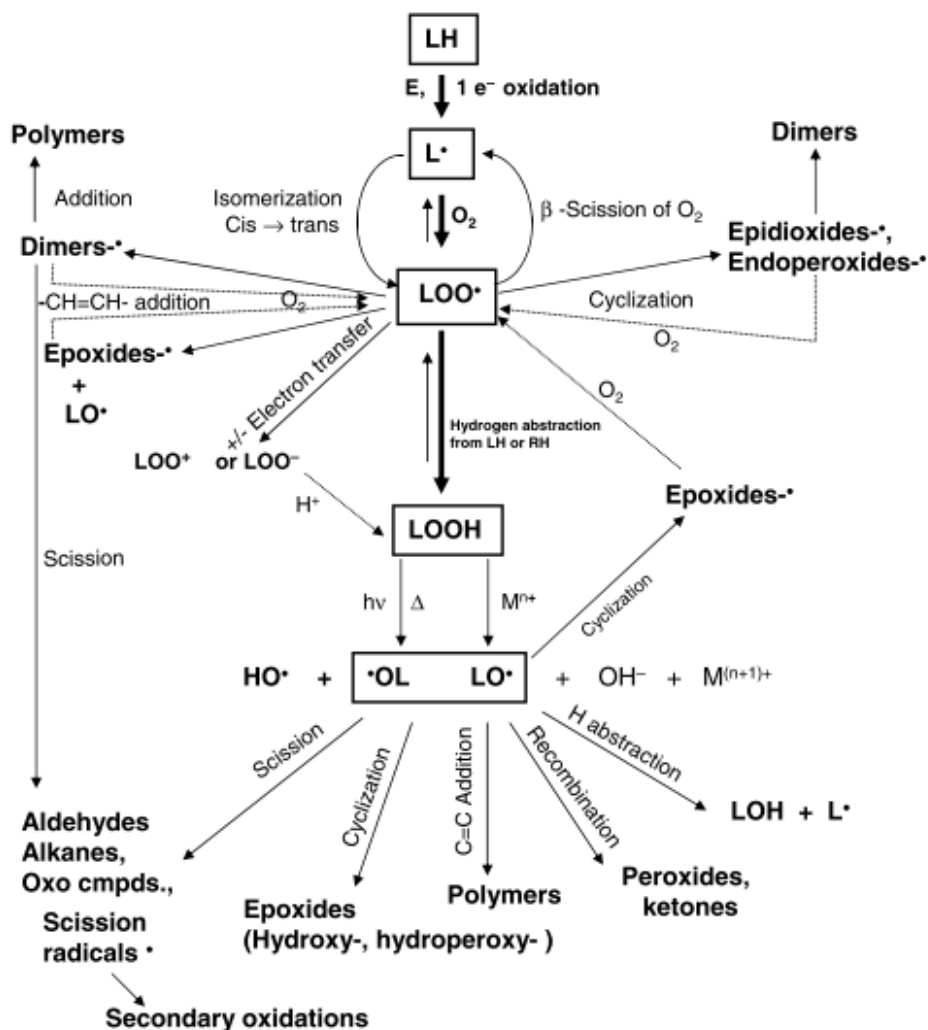


Figura 5 - Esquema integrado de diferentes caminhos possíveis de oxidação lipídica. Fonte: Schaich (2005)

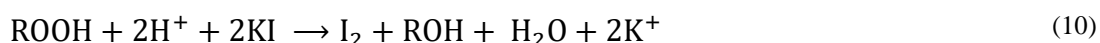
### 2.3.1 Índice de Peróxidos (PV)

Tal como descrito anteriormente, os hidroperóxidos são os primeiros compostos relativamente estáveis formados no processo de oxidação lipídica, sendo estes os principais indicadores de rancificação detetados por análise química. As análises químicas a estes compostos permitem determinar o índice de peróxidos (PV), medido em miliequivalentes de oxigénio ativo por quilograma de amostra (meq/kg O<sub>2</sub>) (Schaich, 2016).

Por norma, considera-se como um óleo de boa qualidade aquele que tem um índice de peróxidos inferior a 1 meq/kg, e o valor máximo aceitável para uso na indústria alimentar deve ser 5 meq/kg. A partir de 10 meq/kg, os óleos são considerados rançosos (Schaich, 2016).

O método de análise mais utilizado é uma titulação iodométrica. Este método consiste na reação dos hidroperóxidos e outros peróxidos com o ião iodeto em meio ácido, dando origem a iodo que, na presença de amido, pode ser titulado com tiosulfato de sódio (Antolovich, Prenzler, Patsalides, McDonald & Robards, 2002; Barriuso, Astiasarán & Ansorena, 2013).

Estas reações dão-se como descrito seguidamente nas equações (10) e (11).



É importante notar que um valor baixo de PV não indica, necessariamente, um baixo nível de rancificação, uma vez que, com o avançar da oxidação lipídica, os hidroperóxidos são decompostos em produtos de oxidação secundários. Assim, quando se começam a formar produtos secundários da oxidação, o índice de peróxidos começa a diminuir, mas a rancificação continua a aumentar.

### 2.3.2 Índice de p-Anisidina (IpA)

Para além de medir os produtos primários da oxidação é conveniente complementar o estudo da oxidação lipídica com a avaliação de produtos secundários (Griffiths, n.d.).

A forma mais utilizada de quantificar os produtos secundários de oxidação é pela medida do índice de p-anisidina que permite detetar e avaliar os produtos de oxidação secundários, nomeadamente aldeídos insaturados (Barriuso, et al., 2013).

O princípio deste ensaio assenta na reação de aldeídos insaturados com o composto p-anisidina, em meio acético, dando origem a um complexo amarelo que absorve luz no comprimento de onda de 350 nm. A reação de formação deste produto é ilustrada na Figura 6 e dá-se pela reação do grupo carbonilo do aldeído com o grupo amina da p-anisidina (Laguerre, Lecomte & Villeneuve, 2007; Silva, Borges & Ferreira, 1999).

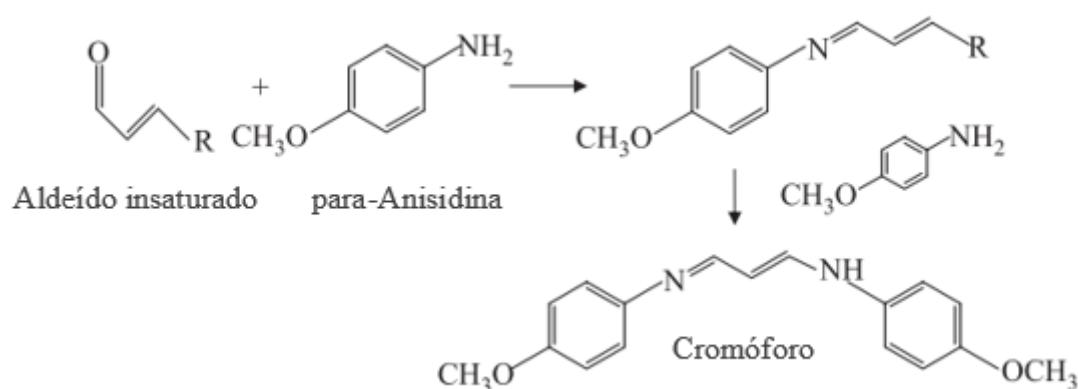


Figura 6 – Reação global da p-anisidina com aldeídos insaturados, em meio ácido, dando origem a compostos de cor amarela. Fonte: Schaich (2016).

A IUPAC estabeleceu, para óleos não rançosos, um limite de IpA de 10 (Silva, et al., 1999).

Este índice é muitas vezes associado ao índice de peróxidos pelo valor de oxidação total, vulgarmente intitulado TOTOX que se calcula da forma seguinte, descrita na equação (12) (Akoh & Min, 2012; Schaich, 2016)

$$\text{TOTOX} = 2 \times \text{PV} + \text{IpA} \quad (12)$$

## 2.4 Antioxidantes

Antioxidante é a substância que, em quantidades muito inferiores às do produto em que é introduzido, diminui ou inibe significativamente a oxidação lipídica do produto. Trata-se do principal recurso da indústria alimentar para evitar ou atrasar o desenvolvimento da oxidação lipídica (Antolovich, et al., 2002).

Dependendo da forma como impedem a oxidação, os antioxidantes podem ser classificados como antioxidantes primários ou secundários. Os antioxidantes primários reagem diretamente com radicais livres de ácidos gordos, dando origem a produtos mais estáveis, não radicalares. Este tipo de antioxidantes, ao consumirem radicais livres, interferem na fase de propagação, interrompendo as reações em cadeia. Diz-se, por isso, que são antioxidantes de quebra de cadeia. Os antioxidantes secundários não reagem diretamente com os radicais livres, reagem sim com substâncias que, por sua vez, interagem com os radicais livres. A capacidade dos antioxidantes secundários existe por serem capazes de quelar metais ou captar oxigénio. Ao atuarem sobre catalisadores da oxidação, previnem que esta tenha início, sendo chamados de antioxidantes secundários ou preventivos (Antolovich, et al., 2002; Jacobsen & Sørensen, 2015).

É de sublinhar que o efeito criado por um antioxidante depende muito do sistema em que é introduzido. Assim, um composto pode ter um efeito antioxidante numa maionese e ter um efeito pro-oxidante no óleo isolado ou em leite. Desta forma é difícil prever o efeito antioxidante que um composto terá num dado sistema alimentar, tendo que ser analisado caso a caso (Jacobsen, Let, Nielsen & Meyer, 2008).

### 2.4.1 O Paradoxo Polar

O chamado “Paradoxo Polar” é o princípio observado por diversos investigadores que estipula que antioxidantes polares têm um maior efeito antioxidante em meios apolares, como o óleo, e antioxidantes apolares funcionam melhor em meio polar como a água presente em maioneses (Frankel, Huang, Kanner & German, 1994).

A explicação para este fenómeno parece ser que em emulsões O/W os antioxidantes apolares iriam localizar-se na interface óleo-água, local onde se dá a maioria das reações de oxidação, como ilustrado na Figura 7. Desta forma os antioxidantes apolares funcionam melhor a inibir a oxidação em emulsões O/W, ao contrário do que acontece com antioxidantes polares que se dispersam no seio da fase aquosa, não tendo tanto impacto no controlo da oxidação lipídica (Laguerre, et al., 2015).

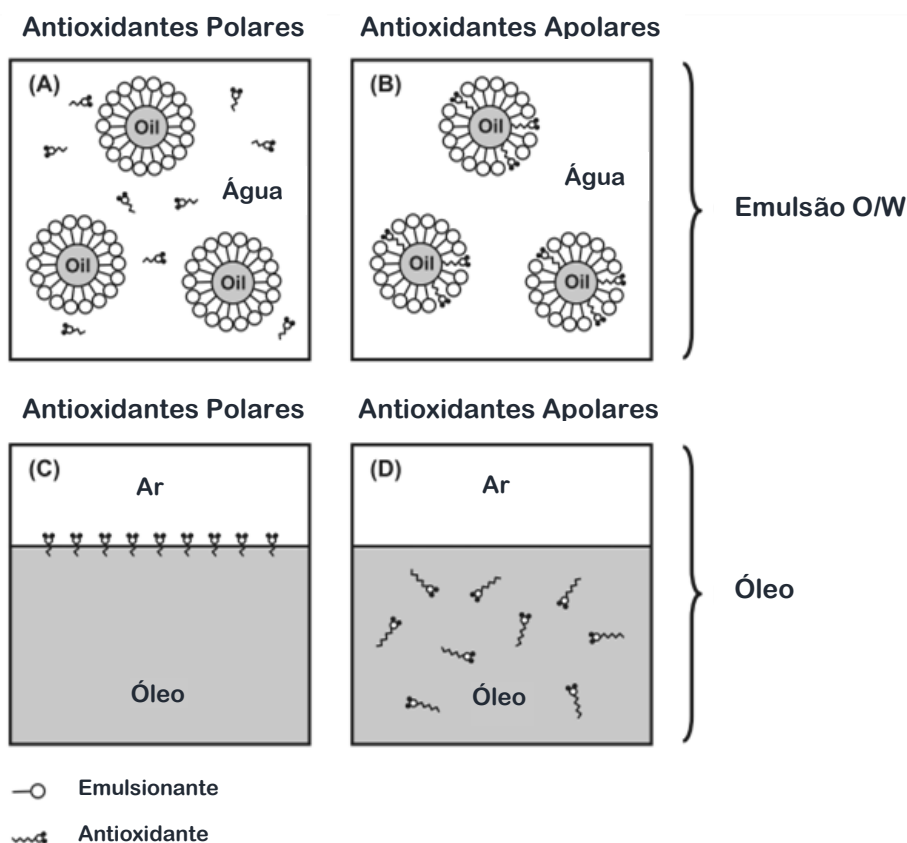


Figura 7 - Efeito e localização de antioxidantes polares e apolares em emulsões de óleo em água e em óleo. Adaptado de: Laguerre, et al. (2015).

Esta teoria veio salientar o facto de que dados da atividade de um antioxidante não podem ser extrapolados de um sistema para outro e que dependem das características de cada sistema.

#### 2.4.2 Teoria do “Efeito Cut-off”

A teoria do paradoxo polar implica uma relação linear entre hidrofobicidade e capacidade antioxidante, ou seja, quando mais hidrofóbico (apolar) seja um composto, maior



é a sua capacidade antioxidante numa emulsão. No entanto concluiu-se que esta relação não é linear.

A teoria do “efeito cut-off” estipula que a capacidade antioxidante numa emulsão aumenta com a apolaridade do antioxidante em questão até um limite em que esta situação se inverte (Laguerre, et al., 2010).

Este efeito foi registado por investigadores que verificaram a capacidade antioxidante de uma série homóloga de ácido rosmarínico e seus ésteres derivados, variando o comprimento da cadeia apolar destes compostos. Verificou-se que ésteres de ácido rosmarínico com cadeias até cerca de oito átomos de carbonos aumentam a estabilidade oxidativa dos sistemas, mas que cadeias maiores, com cerca de dezoito ou vinte carbonos, aumentam significativamente a oxidação lipídica na emulsão (Laguerre, et al., 2010; Panya, Kittipongpittaya, et al., 2012; Panya, Laguerre, et al., 2012).

Uma explicação para este efeito sugere que quando é atingido um certo nível de hidrofobicidade os ésteres têm tendência a criar micelas no seio da fase aquosa, não se posicionando na interface óleo-água. Uma vez que o cerne da oxidação lipídica tem origem na interface, o antioxidante, ao formar micelas, deixa de estar disponível na interface para combater a oxidação (Berton-Carabin, et al., 2014).

#### 2.4.3 Antioxidantes Sintéticos

Os antioxidantes sintéticos são muito utilizados para estabilizar alimentos ricos em gordura pela sua eficiência a reduzir a oxidação lipídica. No entanto, a comunidade científica alerta para a potencial toxicidade e carcinogenicidade a longo prazo destes compostos, o que leva a uma restrição do uso de antioxidantes sintéticos em produtos destinados à alimentação humana, de modo a reduzir problemas para a saúde humana (Honold, Jacobsen, Jónsdóttir, Kristinsson & Hermund, 2016; Kwon, Ko & Shin, 2015; Sainsbury, Grypa, Ellingworth, Duodu & De Kock, 2016).

Antioxidantes sintéticos são por isso altamente regulados para utilização alimentar com teores permitidos muito reduzidos, e a tendência é a sua proibição futura (Peng, Yuan, Liu & Ye, 2005).

### ***terc*-Butil-hidroquinona –TBHQ (E319)**

TBHQ é um composto sintético, polar, pertencente ao grupo de compostos fenólicos. É muito conhecido pelas suas capacidades antioxidantes, atuando como antioxidante primário de quebra de cadeia (Antolovich, et al., 2002; Gorji, et al., 2016). Na legislação europeia está limitado a um uso máximo de 200 mg/kg de matéria gorda, em molhos do tipo maionese, em uso isolado ou em combinação com galatos e butil-hidroxianisole (BHA) (Regulamento (UE) N° 1129/2011, 2011).

### **Butil-Hidroxianisole – BHA (E320)**

BHA funciona como antioxidante primário, atuando na quebra de cadeia (Antolovich, et al., 2002).

BHA está classificado pela *National Institutes of Health*, unidade do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, como um potencial carcinogénico para os seres humanos (National Institutes of Health, 2016).

No entanto, a legislação europeia permite o seu uso isolado ou em combinação com galatos e TBHQ num teor máximo de 200 mg/kg de matéria gorda (Regulamento (UE) N° 1129/2011, 2011).

### **Ácido Etilenodiaminatetracético – EDTA (E385)**

O EDTA, mais especificamente, EDTA de cálcio dissódico, é o composto mais utilizado atualmente na conservação de alimentos por ser um forte antioxidante. A sua capacidade antioxidante advém da sua forte capacidade quelante de metais, principalmente de ferro livre e ferro presente na fosvitina do ovo, metal importante catalisador da oxidação lipídica (Gorji, et al., 2016).

É um antioxidante polar que tem uma melhor atuação na prevenção de formação de produtos secundários do que primários (Let, Jacobsen & Meyer, 2007).

A legislação europeia permite o uso do etilenodiaminatetracetato de cálcio dissódico em molhos, apenas emulsionados, num teor máximo de 75 mg/kg (Regulamento (UE) N° 1129/2011, 2011).

### **Galato de Propilo (E310)**

Trata-se de um éster de ácido gálico, menos polar que este último, que é largamente utilizado como antioxidante na indústria alimentar. A sua atividade antioxidante prende-se com a sua eficiência como captador de radicais livres (Gorji, et al., 2016).

A legislação europeia permite o seu uso isolado ou em combinação com BHA e TBHQ num teor máximo de 200 mg/kg de matéria gorda (Regulamento (UE) N° 1129/2011, 2011).

#### **2.4.4 Antioxidantes Naturais**

### **Ácido Gálico**

Ácido fenólico polar de origem vegetal cuja capacidade antioxidante está ligada à capacidade de aprisionar radicais livres. No entanto foi identificado como um pro-oxidante por promover a oxidação lipídica em maionese. Esta atividade pro-oxidante pensa-se que está ligada à sua aptidão para reduzir  $\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{Fe}^{2+}$ , mais reativo na promoção da oxidação (Gorji, et al., 2016; Saarela, 2011).

### **Ácido Ascórbico (E300)**

Vulgarmente conhecido por vitamina C, trata-se de um antioxidante polar que permite a transferência de eletrões, terminando as reações de oxidação em cadeia. Pode também atuar ao captar oxigénio.

Este antioxidante, no entanto, é utilizado em outros sistemas alimentares e não é comum utilizar-se na maionese. Já foi estudada a possibilidade da introdução de ácido ascórbico em maioneses como antioxidante, contudo, o ácido ascórbico tem a capacidade de

libertar o ferro presente na fosvitina da gema de ovo e ao libertar o ferro, este irá contribuir para o desenvolvimento da oxidação lipídica (Jacobsen, Adler-Nissen, & Meyer, 1999; Saarela, 2011).

### **Palmitato de Ascorbilo (E305)**

O palmitato de ascorbilo é um éster constituído pela conjugação de ácido ascórbico e ácido palmítico, produzindo um derivado apolar do ácido ascórbico, tornando-se, portanto, mais adequado para a utilização em maionese.

O mecanismo de atividade antioxidante está ligado à sua capacidade de captar oxigénio, metais e radicais livres, interrompendo as reações em cadeia. Tem ainda a capacidade de regenerar tocoferóis (Let, et al., 2007).

Alguns estudos apontam para a sua atividade pro-oxidante, principalmente quando utilizado em altas concentrações, que se reflete na produção de compostos voláteis responsáveis pelos odores típicos da oxidação embora seja relativamente eficaz na inibição da formação de peróxidos (Jacobsen, et al., 2008).

No *Codex Alimentarius* está autorizado o uso deste antioxidante em maionese num limite de 500 mg/kg, calculado em termos de matéria gorda (FAO, 2017).

### **Tocoferol (E307)**

Também designado por vitamina E, o tocoferol está entre os antioxidantes naturais mais usados e existem quatro isómeros de tocoferol:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ . Atua como um antioxidante primário por doar iões  $H^+$ , interrompendo as reações em cadeia, no entanto não tem propriedades quelantes de metais. Por serem antioxidantes apolares são mais eficientes em emulsões que no óleo (Jacobsen, et al., 2001; Let, et al., 2007).

A atividade antioxidante dos tocoferóis tem a peculiaridade de diminuir quando estes se encontram em concentrações muito altas. Foi demonstrado por vários investigadores que a introdução de tocoferóis em concentrações elevadas promove a oxidação lipídica da

maionese ou inibe muito ligeiramente a oxidação, tendendo estes, portanto, a perder as suas capacidades antioxidantes com o aumento da concentração (Jacobsen, et al., 2001, 2008; Let, et al., 2007; Saarela, 2011).

Estes compostos existem em vegetais e produtos derivados, sendo encontrado naturalmente no óleo de girassol em relativa abundância. A forma mais abundante é o  $\alpha$ -tocoferol, que é também a espécie mais reativa (White & Xing, 1997).

### **Extratos de Rosmaninho (E392)**

Os extratos da planta *Rosmarinus officinalis* L., legalmente designados de extratos de rosmaninho, são extratos naturais ricos em compostos fenólicos antioxidantes, nomeadamente, ácido carnósico, carnosol e ácido rosmarínico. Estes compostos têm capacidade de quelar metais como o ferro e captar radicais peróxido existentes no meio. A atividade antioxidante do ácido carnósico excede a de outros antioxidantes sintéticos, como butil-hidroxitolueno (BHT) e BHA e a sua capacidade antioxidante tende a aumentar com a concentração (Baratta, Dorman, Deans, Biondi, & Ruberto, 1998; Gorji, et al., 2016).

É, por isso, o principal antioxidante natural usado para substituir antioxidantes sintéticos. Apresenta um efeito sinérgico com vários compostos ativos presentes naturalmente em maioneses e óleos, como tocoferóis, ácido cítrico, e outros antioxidantes como BHA e BHT (Etter, 2005).

Embora existam poucos estudos quanto à sua utilização em maioneses, um estudo demonstra que, ao adicionar-se extratos de rosmaninho a maioneses de óleo de girassol, há uma diminuição dos compostos voláteis produzidos pela ação da luz. Pensa-se que estes extratos tenham um efeito antioxidante em maioneses por terem capacidade para quelar metais, inibir a formação de peróxidos e interromper as reações em cadeia. No entanto, alteram o sabor e odor do produto final (Gorji, et al., 2016; Lagunes-Galvez, Cuvelier, Ordonnoud & Berset, 2002; Mariutti & Bragagnolo, 2007).

Na legislação tem o número de aditivo E392 e o limite legal permitido em maionese é expresso como a soma de carnosol e ácido carnósico, sendo o limite de 100 ppm medido em relação à matéria gorda (Regulamento (UE) N° 1129/2011, 2011).

### **Licopeno (E160d)**

O licopeno é uma substância existente na pele de tomate e é utilizado como corante alimentar, no entanto, possui características antioxidantes ao quebrar a cadeia de reações de oxidação. A sua utilização é permitida em molhos até 50mg/kg (Gorji, Smyth, Sharma, & Fitzgerald, 2016; Regulamento (UE) N° 1129/2011, 2011).

O seu uso em maioneses atrasa o desenvolvimento de sabores indesejáveis e é bem aceite pelos consumidores (Gorji et al., 2016).

### **Gengibre**

No gengibre encontram-se compostos polifenólicos como o 6-gingerol e derivados, cujas capacidades antioxidantes têm sido estudadas. O seu poder antioxidante deve-se à sua capacidade de captar radicais livres, com a vantagem de melhorar as características organoléticas de maioneses. No entanto, a sua capacidade antioxidante não é suficiente para diminuir produtos primários e secundários da oxidação, sendo eficaz, sobretudo, na inibição da libertação de hexanal (Gorji et al., 2016; Kwon, Ko, & Shin, 2015).

### **Cravo-da-Índia**

O cravo-da-índia, tal como outras especiarias, possui uma elevada percentagem de compostos fenólicos na sua composição que funcionam como antioxidantes em sistemas lipídicos. No entanto, ainda foram efetuados poucos testes em maioneses (Gorji et al., 2016).

### **Extratos de Azeitona**

Extratos de azeitonas é o nome genérico dos extratos de plantas da família das oleáceas, nomeadamente oliveira (*Olea europaea* L.). Nestes extratos foram identificados até trinta e seis compostos fenólicos diferentes (Bordalo, 2014).

Estes extratos são ricos em compostos fenólicos com características antioxidantes, nomeadamente, hidroxitirosol e oleuropeínas. A azeitona está associada à alimentação mediterrânea, principalmente o azeite extraído destes frutos. No entanto, historicamente, as folhas da oliveira têm também sido usadas no tratamento de doenças (Benavente-García, Castillo, Lorente, Ortuño & Rio, 2000; McDonald, Prenzler, Antolovich & Robards, 2001).

O principal princípio ativo nos extratos de azeitona é o hidroxitirosol, um composto fenólico reconhecido como um dos mais fortes antioxidantes conhecidos. Como outros compostos fenólicos, tem a habilidade de resgatar radicais livres e possui ainda capacidade quelante de iões metálicos. No entanto, tem mostrado uma maior eficiência em óleo que em emulsões (Bordalo, 2014; Gordon, Paiva-Martins & Almeida, 2001).

Nos extratos de folha de oliveira, os componentes maioritários são oleuropeínas, responsáveis pelo sabor amargo destas. Estes compostos são conhecidos pelas suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, tendo sido identificadas, ainda, propriedades antibióticas e antifúngicas. A oleuropeína, em conjugação com outros compostos fenólicos presentes na folha de oliveira, têm capacidades antioxidantes graças à capacidade de capturar radicais livres e de quelar iões metálicos (Benavente-García, et al., 2000; Bordalo, 2014).

### **Extrato de Grainha de Uva**

Extrato rico em compostos fenólicos como catequinas e proantocianidinas, aproveitado de um resíduo da produção vinícola, com capacidades antioxidantes por captação de radicais livres. Contudo, em aplicação em maioneses este extrato diminui a aceitação sensorial, especialmente em termos de cor, sendo que, ao longo do tempo, a maionese com extrato de grainha de uva tende a perder a sua coloração amarela e a ganhar uma tonalidade avermelhada (Altunkaya, et al., 2013).

### **Extrato de Alga *Fucus vesiculosus***

A alga *Fucus vesiculosus* possui, na sua constituição diversos compostos antioxidantes, entre eles, carotenóides, clorofilas e tocoferóis, assim como compostos fenólicos, em destaque, florotaninos. Os extratos destas algas funcionam como antioxidantes naturais, reduzindo a oxidação lipídica primária e secundária, por terem a capacidade de captar radicais livres e metais (Gorji, et al., 2016; Honold, et al., 2016; Wang, et al., 2012).

### **Ácido Ascórbico, Lecitina e Tocoferóis (A/L/T)**

O sistema conjugado de ácido ascórbico, lecitina e tocoferóis é um dos sistemas de antioxidantes mais conhecidos, sendo bastante eficaz em óleos. No entanto, estudos mostram a sua ineficácia em sistemas complexos como a maionese, promovendo a oxidação desta. Este fenómeno deve-se ao efeito que o ácido ascórbico tem na fosvitina do ovo, como descrito anteriormente. (Depree & Savage, 2001; Jacobsen, et al., 2000).

### **Palmitato de Ascorbilo, Lecitina e Tocoferóis**

Tratando-se de uma variação do sistema A/L/T, este sistema pretende melhorar a atividade antioxidante dos tocoferóis. A razão porque nesta mistura é introduzido palmitato de ascorbilo no lugar de ácido ascórbico é por ser mais apolar que este último, melhorando o seu comportamento em emulsões, tal como explicado no ponto 2.4.1. (Let, et al., 2007).

Esta mistura é utilizada porque o tocoferol quebra cadeias de reações e capta oxigénio livre, contudo, não tem capacidade para quelar metais, função esta que o palmitato de ascorbilo irá adicionar ao sistema, aumentando a capacidade antioxidante da mistura. Por outro lado, o palmitato de ascorbilo, tal como descrito anteriormente, tem a capacidade de regenerar tocoferóis, melhorando, teoricamente, a ação antioxidante destes. No entanto, tal como acontece com o ácido ascórbico, o palmitato de ascorbilo tende a libertar o ferro do ovo, aumentando a oxidação lipídica (Jacobsen, et al., 2000, 2001).



### 3 Metodologia

Tal como referido no ponto 1.3, o principal objetivo deste trabalho foi estudar a oxidação lipídica de maioneses. Este estudo foi dividido na observação do papel de um conjunto de antioxidantes em maioneses e doutros fatores físicos, possíveis causadores de oxidação lipídica.

De forma a atingir estes objetivos foram, por um lado, produzidas maioneses com diferentes antioxidantes e, por outro lado, produzidas maioneses alterando algumas condições de produção, nomeadamente a temperatura do óleo usado, a qualidade da água e o volume de headspace na embalagem.

#### 3.1 Produção de Maioneses

##### 3.1.1 Efeito de antioxidantes

Todas as maioneses foram produzidas segundo o processo e nas proporções usadas pela MG. A produção foi feita em *batch* com recurso a um equipamento homogeneizador. O antioxidante pode ser introduzido juntamente com os pós, se for solúvel em água (EDTA e extratos de azeitona) ou dissolvido no óleo, se for solúvel neste (tocoferóis e extratos de rosmaninho).

As maioneses foram produzidas segundo fórmulas confidenciais, variando, em cada tipo de maionese, apenas o antioxidante usado, sendo estes adicionados de forma a corresponder às estipulações legais e/ou sugestões dos fornecedores.

Produziu-se uma maionese sem adição de antioxidante, sendo esta considerada o branco da experiência. Por outro lado, foi produzida uma maionese de referência, para comparação, com o mesmo antioxidante usado habitualmente pela empresa, ou seja, EDTA.

Na tentativa de alterar o antioxidante utilizado na empresa, foram primeiro adquiridas duas misturas comerciais de tocoferóis específicas. A primeira, chamada neste trabalho de Toco1, trata-se de uma mistura de tocoferóis naturais em óleo vegetal, com outros componentes minoritários. A mistura Toco2, mais complexa, para além de tocoferóis

naturais em óleo vegetal, contém ainda palmitato de ascorbilo e lecitina, e o seu fundamento é descrito no ponto 2.4.4. As quantidades de antioxidante a introduzir foram as recomendadas pelo fornecedor destas misturas: 400 ppm de tocoferol, medido em relação à percentagem de matéria gorda da maionese produzida.

Foram também concebidas maioneses utilizando extratos de plantas conhecidos pelas suas propriedades antioxidantes, como é o caso dos extratos de rosmaninho e de azeitona, pelo que se produziram outras duas maioneses, uma com extratos de rosmaninho e outra com extratos de azeitona. Estes extratos são ricos em compostos fenólicos com capacidade para quelar metais e captar radicais livres, pelo que se prevê que diminuam a rancificação das maioneses. O teor de extratos de rosmaninho a adicionar foi calculado pelo máximo permitido por lei: a soma de carnosol e ácido carnósico num máximo de 0,01%, medido em relação à matéria gorda. Já a maionese com extratos de azeitonas foi produzida de acordo com as especificações do fornecedor que indicou dever usar-se um teor de 200 ppm.

Os extratos de rosmaninho têm também a capacidade de regenerar tocoferóis, à semelhança do que se verifica com o palmitato de ascorbilo na mistura Toco2. Esta capacidade reflete-se numa atividade sinérgica dos extratos de rosmaninho com os tocoferóis, por isso, foi feita uma maionese com uma conjugação de extratos de rosmaninho com a mistura Toco1, pretendendo melhorar-se as características antioxidantes destes compostos isolados. Escolheu-se conjugar os extratos de rosmaninho com a mistura Toco1, em detrimento da mistura Toco2 porque esta última, ao contrário da primeira, já tem na sua constituição um composto com capacidade para quelar metais e regenerar tocoferóis. (Hraš, Hadolin, Knez & Bauman, 2000; Panya, Kittipongpittaya, et al., 2012)

Na Tabela 1 apresentam-se os antioxidantes usados na produção de maioneses e os principais compostos presentes responsáveis pela ação antioxidante.

Tabela 1 - Lista de antioxidantes e conjugação de antioxidantes utilizados na produção de maioneses, compostos ativos e respetivo teor utilizado.

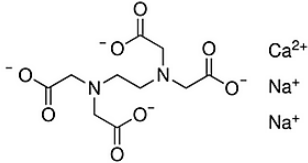
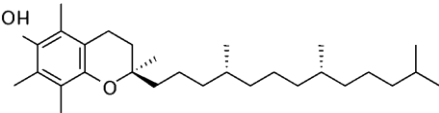
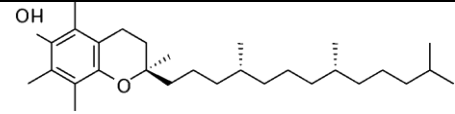
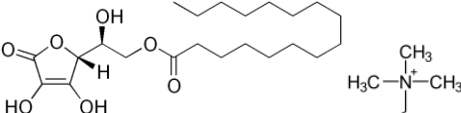
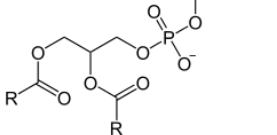
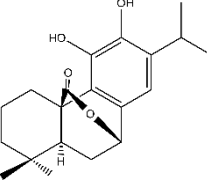
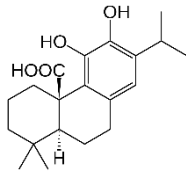
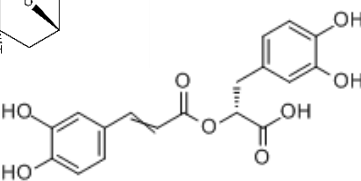
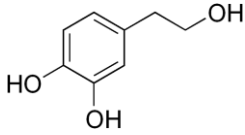
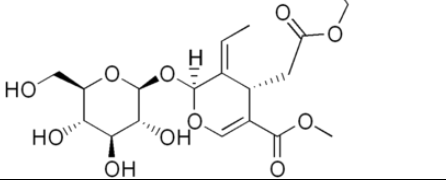
Antioxidante usado	Principais compostos ativos	Teor
<b>Branco</b>	-	-
<b>EDTA</b>	EDTA 	Limite legal: 75 mg/kg
<b>Toco1</b>	Tocoferóis* 	Recomendação do fornecedor: 400 ppm
<b>Toco2</b>	Tocoferóis*  Palmitato de Ascorbilo  Lecitina 	Recomendação do fornecedor: 400ppm
<b>Toco1+Extratos de Rosmaninho</b>	Tocoferóis Ácido Carnósico Carnosol Ácido Rosmarínico	Recomendação do fornecedor e limites legais
<b>Extratos de Rosmaninho</b>	Ácido Carnósico  Carnosol  Ácido Rosmarínico 	Limite legal: 100 ppm

Tabela 1 (continuação)

Antioxidante usado	Principais compostos ativos	Teor
<b>Extratos de Azeitona</b>	<p>Hidroxitirosol</p>  <p>Oleuropeínas</p> 	Recomendação do fornecedor: 200 ppm
*Tocoferóis refere-se à mistura das formas $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ e $\delta$ -tocoferóis. A forma representada é o $\alpha$ -tocoferol por ser o componente maioritário.		

### 3.1.2 Efeito de outros fatores

Para além do estudo feito envolvendo antioxidantes, foi também estudada a influência de outros fatores na estabilidade oxidativa das maioneses.

#### Qualidade da água

A qualidade da água usada na produção de maioneses pode ter um grande impacto no desenvolvimento de ranço, sobretudo se falarmos de águas ricas em metais de transição como ferro, tal como referido no ponto 2.3.

Desta forma, foi considerado importante estudar o impacto que a qualidade da água usada teria na oxidação lipídica de maioneses.

No momento de produção das maioneses, a água utilizada na fábrica da Golegã apresentava uma condutividade na ordem dos 1400  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . No entanto, estava programada a instalação de um sistema de osmose inversa para o tratamento de água, que conseguiria uma redução da condutividade para 200  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Rosa, 2016).

Desta forma, foram produzidas maioneses com água com uma condutividade equivalente àquela conseguida após o tratamento por osmose inversa. Para isto foi diluída a água existente à data com água destilada na proporção de aproximadamente 0,14 kg de água real para cada quilograma de água “tratada” simulada.

Esta influência foi avaliada nos três tipos de maionese, e o antioxidante utilizado foi o EDTA.

### **Temperatura do óleo usado**

Um dos principais ingredientes em maioneses é o veículo da rancificação é o óleo, e este pode sofrer oxidação lipídica, mesmo antes de ser introduzido em maioneses, causada por vários fatores, por exemplo condições de transporte e armazenamento. Sabendo que a temperatura promove o desenvolvimento de ranço, foi sugerido estudar a influência que a temperatura do óleo terá na rancificação do produto final e, a longo prazo, averiguar se será necessário implementar um sistema de transferência de calor de forma a controlar a temperatura do mesmo.

Assim sendo, produziram-se maioneses variando a temperatura do óleo utilizado, utilizando por um lado óleo mantido à temperatura ambiente durante todo o seu armazenamento e óleo aquecido até à temperatura de 40°C e mantido a esta temperatura durante 5 minutos.

### **Headspace**

A rancificação, por se tratar do resultado de uma oxidação lipídica, dá-se na presença de oxigénio, consumindo-o. Assim sendo, a oxidação de um lípido poderá depender da quantidade de oxigénio presente na atmosfera envolvente.

Quando falamos em embalagens, neste caso de maionese, o produto contacta com o ar presente no espaço de cabeça (headspace) da embalagem. O volume deste headspace pode

ter alguma influência no desenvolvimento de ranço e, deste modo, o headspace foi considerado como outro parâmetro a analisar.

Para estudar esta influência, as maioneses produzidas com diferentes temperaturas de óleo, foram acondicionadas de três formas diferentes:

- **Cheio**, as embalagens foram completamente cheias, reduzindo ao mínimo a presença de oxigénio;
- **2/3**, as embalagens foram cheias até 2/3 da sua capacidade, deixando 1/3 de embalagem como headspace;
- **1/2**, as embalagens foram apenas cheias até metade da sua capacidade.

### **Teor de Óleo**

Todas as variáveis referidas nos pontos anteriores deste sub-capítulo foram estudadas em três tipos de maionese, de acordo com o seu teor de matéria gorda segundo a chave seguinte:

- **L**, *Low-fat*, Maionese com 24% de óleo;
- **M**, *Medium-fat*, Maionese com 65% de óleo;
- **F**, *Fat* ou *Real Mayonnaise*, Maionese com 78% de óleo.

Na Figura 8 observa-se um diagrama sumário das maioneses produzidas ao longo deste trabalho e dos nomes atribuídos de forma a identificar abreviadamente as mesmas.



Figura 8 - Diagrama dos fatores estudados durante o trabalho, maioneses produzidas e codificação utilizada.

### 3.2 Armazenagem

As amostras produzidas foram armazenadas em embalagem de PET transparente produzidas na MG, cilíndricas com 180mL e 250mL de volume. Estas embalagens foram seladas com recurso a um equipamento de selagem por indução eletromagnética DGYF-500A.

A maior parte das amostras foram armazenadas em estantes e, portanto, submetidas às condições ambientes de temperatura, humidade e luz.

Uma pequena parte das embalagens foi armazenada numa câmara climática CLIMACELL da MMM Group, a 35°C e com uma humidade relativa de 40%, de forma a promover um envelhecimento acelerado. Parte das embalagens foram mantidas nestas condições durante 70 dias, de forma a simular um tempo de prateleira de 7 meses e as restantes foram mantidas na câmara climática (CC) durante 90 dias, simulando o seu armazenamento durante 9 meses.

O cálculo da equivalência entre o tempo de armazenamento em condições aceleradas ( $t_{cc}$ ) e o tempo de armazenamento à temperatura ambiente ( $t_{amb}$ ) é efetuado de acordo com a equação (13) e tem em conta a temperatura da câmara climática ( $T_{cc}$ ) e a temperatura ambiente ( $T_{amb}$ ) (Schaich, 2016). Normalmente este cálculo é função da cinética dos produtos a armazenar mas na empresa, por já ter sido estudada a cinética chegou-se a esta equação.

$$t_{amb} = t_{cc} \times 2^{\left(\frac{T_{cc}-T_{amb}}{10}\right)} \quad (13)$$

Na empresa, no estudo de vida útil acelerado em câmara climática é tipicamente utilizada a equação (13) e neste estudo utilizou-se a mesma correspondência, no entanto, trata-se de uma aproximação, uma vez que a câmara climática não possui iluminação e deste modo não existe a componente da luz na oxidação.

Dentro da CC as maioneses estão sujeitas a condições que aceleram a oxidação lipídica como temperatura e humidade elevadas, estando, no entanto, estão protegidas da luz.

### 3.3 Análises Físico-Químicas

As amostras foram submetidas a um acompanhamento das características físico-químicas, mensalmente. As análises efetuadas medem parâmetros importantes para as características de uma maionese como viscosidade, pH, acidez titulável e cor.

De forma a avaliar as características reológicas das maioneses, mediu-se a viscosidade destas utilizando um viscosímetro Brookfield DV2T com uma sonda 07 a 30 rpm. Esta medição permite avaliar a consistência e estabilidade da emulsão.

O pH é avaliado com um medidor de pH da HANNA Instruments, modelo HI2211, com recurso a um elétrodo de prata e corpo de vidro, igualmente da HANNA Instruments, modelo HI1053. As calibrações foram realizadas com recurso a soluções *buffer* de pH 4,01 e 7,01.

A acidez titulável pretende contabilizar a soma total de ácidos numa amostra e o resultado é apresentado em percentagem de ácido acético. Esta é medida através de uma



titulação com uma solução aquosa de hidróxido de sódio 0,1N, da VWR Chemicals, com recurso a um medidor de pH com bureta PH-Matic 23 da CRISON Instruments, modelo CRI2304 e com um elétrico CRISON 5011T. Na determinação da acidez titulável utilizou-se uma balança KERN, modelo KB2000-2N (Crison, 2009).

Foi ainda medida a cor com recurso a colorímetro de bancada, modelo CR-5 da Konica Minolta, em modo Caixa de Petri, onde foi colocada uma toma de ensaio no recipiente apropriado para amostra. Este aparelho recorre ao sistema tridimensional CIELab, no qual o eixo  $L^*$  dá o valor da luminosidade da amostra no intervalo [0;100], o eixo  $a^*$  corresponde ao eixo dos vermelhos ( $+a^*$ ) /verdes ( $-a^*$ ) e o  $b^*$  dá a coordenada no eixo amarelo ( $+b^*$ ) /azul ( $-b^*$ ), e estes dois últimos parâmetros variam no intervalo [-100; +100].

### 3.4 Provas Organoléticas

De forma a avaliar a evolução organolética das maioneses, estas foram sujeitas a provas sensoriais, individuais ou recorrendo a um pequeno grupo de provadores. De acordo com o experienciado pelo provador, cada maionese é pontuada de acordo com a escala apresentada na Figura 9 e a classificação atribuída pretende avaliar o deterioramento das maioneses pelas alterações identificadas ao longo do tempo. Os parâmetros avaliados foram sabor, odor e aspeto.

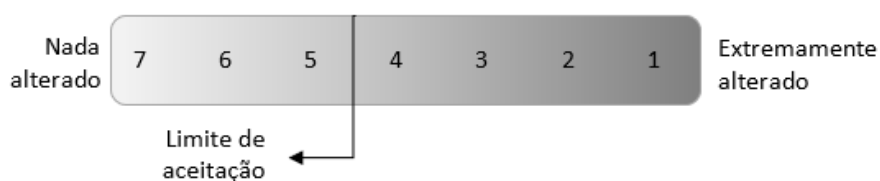


Figura 9 - Escala de classificação usada nas provas organoléticas realizadas. (E.P)

As provas realizadas foram provas cegas, ou seja, decorreram sem que os provadores tivessem conhecimento prévio da amostra que estavam a provar. Foram ainda fotografadas todas as amostras de forma a registar o aspeto das mesmas, tal como exemplificado na Figura 10.

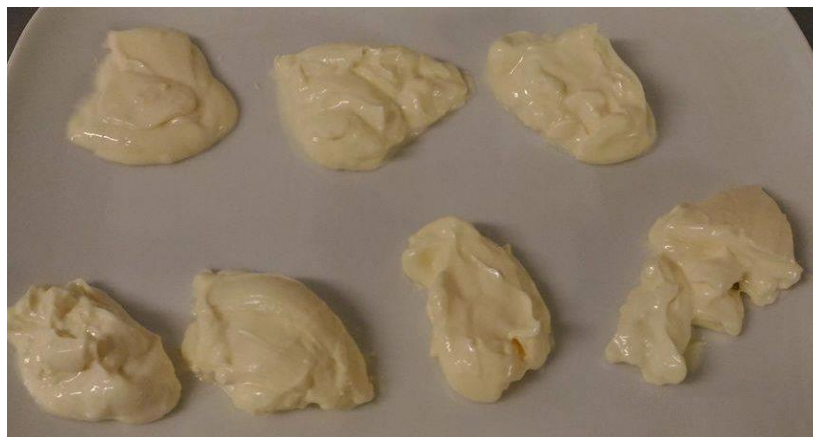


Figura 10 - Exemplo do registo fotográfico efetuado para as maioneses, neste caso no estudo de antioxidantes em maionese *fat*- FAox.

### 3.5 Determinação de Índice de Peróxidos (PV)

#### 3.5.1 Óleos

Tal como explicado no ponto 2.3.1, a determinação do PV assenta no princípio de que os peróxidos, produtos primários da oxidação, reagem, em meio ácido, com iões iodeto, dando origem a iodo. A quantidade de iodo produzida por esta reação pode ser contabilizada por uma titulação com tiosulfato de sódio, na presença de amido (Barriuso, et al., 2013).

A determinação do Índice de Peróxidos foi feita segundo a norma portuguesa NP EN ISO 3960:2004 - Determinação do índice de peróxidos. Segundo esta norma a determinação deve ser feita em atmosfera inerte e a massa da toma de ensaio é função do índice de peróxidos previsto, como ilustrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Massa da toma de ensaio a efetuar e precisão de pesagem. Fonte: NP EN ISO 3960:2004.

Índice de Peróxido esperado mmol/kg	Massa da amostra g	Precisão da pesagem g
0 a 6	5,0 a 2,0	±0,01
6 a 10	2,0 a 1,2	±0,01
10 a 25	1,2 a 0,8	±0,01
15 a 25	0,8 a 0,5	±0,001
25 a 45	0,5 a 0,3	±0,001

Para a determinação adicionou-se à amostra 50 mL de uma solução de ácido acético glacial/isooctano (3:2) à amostra e agitou-se até dissolução completa desta. Mediu-se 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio e juntou-se à solução anterior e permitiu-se que reagisse durante  $1 \text{ min} \pm 1 \text{ s}$  e no decorrer deste período adicionaram-se 30 mL de água destilada.

Esta mistura foi titulada com tiosulfato de sódio (concentração variável a definir consoante PV esperado), sob agitação forte e constante, até ao desaparecimento da cor amarela forte do iodo (amarelo-palha), ponto no qual se adicionaram algumas gotas de cozimento de amido. A titulação continuou até ao desaparecimento da cor azul.

O índice de Peróxido, PV, é expresso em miliequivalentes por quilograma e calculado pela equação (14):

$$PV = \frac{1000(V - V_0) \times c}{m} \quad (14)$$

Em que:

V é o volume, em mL, da solução de tiosulfato de sódio usada na determinação;

$V_0$  é o volume, em mL, da solução de tiosulfato de sódio usado na determinação do ensaio em branco;

c é a concentração, em M, da solução de tiosulfato de sódio usada na titulação;

m é a massa, em g, da toma de ensaio.

### 3.5.2 Maioneses

Para a determinação do índice de peróxidos em maioneses recorre-se à mesma técnica utilizada para a determinação em óleos, no entanto, não é possível utilizar a maionese diretamente na determinação. Desta forma é necessário extrair o óleo da maionese e analisar o óleo separado.

Para separar o óleo da maionese deve quebrar-se a emulsão de forma a haver separação de fases. A quebra da emulsão pode ocorrer por agitação, choque, calor, evaporação e congelamento (O'Brien, 2004) .

Uma vez que a oxidação lipídica é afetada pela temperatura, os métodos de separação de fase que envolvem calor não podem ser utilizados neste caso. Após diversas tentativas estabeleceu-se um método que consegue, a maioria das vezes, separar o óleo eficazmente. Algumas das abordagens experimentadas para conseguir a quebra da emulsão foram:

- Utilizar a maionese diretamente da determinação de peróxidos, no entanto, o resultado foi uma fraca dissolução da maionese no meio reacional, resultando em grânulos, como ilustrados Figura 11-a), não se conseguindo libertar o óleo presente nestes;
- Uma causa para a quebra de emulsões é a vibração, pelo que se submeteu maioneses a vibração intensa, com recurso a uma plataforma de vibração de betão, sem resultados aparentes;
- Pela adição de soluções de diferentes concentrações de sulfato de alumínio, por ter a capacidade de reduzir a concentração de ovo na interface óleo/água, facilitando a quebra da emulsão (Gray, D. M., 1927). No entanto não se conseguiu quebrar a emulsão como se pode observar na Figura 11-b);
- Recorreu-se também a um processo de extração por solventes. No entanto, o processo de separação dos solventes antes da determinação do PV, mesmo recorrendo a um sistema de evaporação rotativo a pressão reduzida, necessitava de alguma temperatura (40°C) que resultava numa sobrevalorização do valor de PV;
- O método mais utilizado na bibliografia envolve o congelamento das emulsões a -80°C durante um período entre 2 e 10 dias (Pavlović, et al., 2012). Contudo, não foi possível ter acesso a nenhum aparelho que conseguisse estas temperaturas, assim sendo, a única hipótese ao nosso alcance foi congelar as maioneses a -18°C e avaliar se, com períodos de tempo mais alargados seria possível atingir a separação de fases.

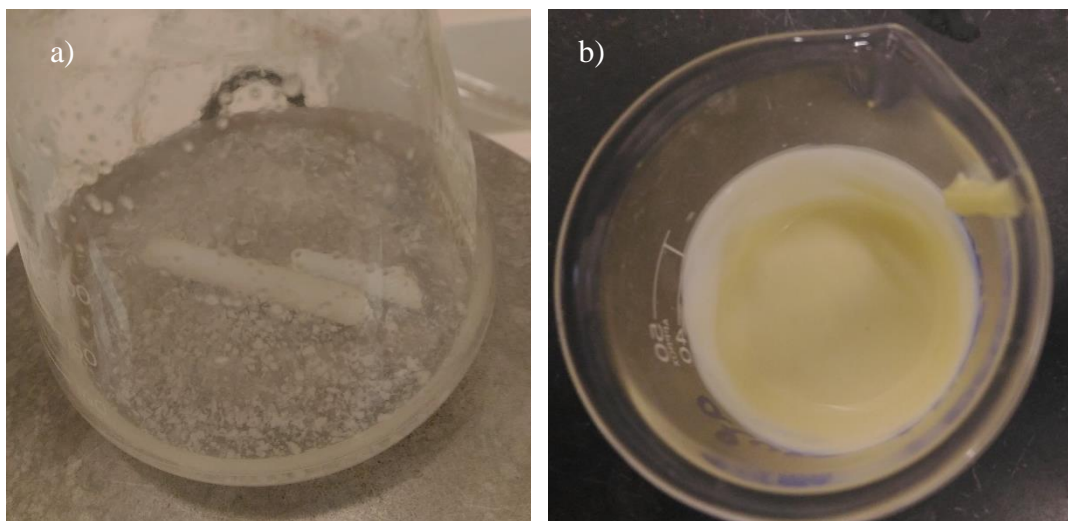


Figura 11 - Resultados de algumas tentativas de quebra de emulsão para separação de óleo.

- a) Tentativa mal sucedida de determinação do índice de peróxidos diretamente nas maioneses;
- b) Tentativa mal sucedida de quebra de emulsão por introdução de sulfato de alumínio.

O método finalmente estabelecido envolve o congelamento da maionese durante, pelo menos, duas semanas, a  $-18^{\circ}\text{C}$ , seguido de descongelamento a  $5^{\circ}\text{C}$ , durante duas horas. Desta forma, as maioneses foram congeladas até  $-18^{\circ}\text{C}$  numa câmara de congelação Pecomark BOX-MR-9. No caso das maioneses *low-fat*, cuja separação é mais difícil, é necessário recorrer ao choque mecânico e tensão de corte após o congelamento.

O choque mecânico, nem sempre eficaz, envolve o lançamento das embalagens de maionese semi-descongeladas com força para o chão. Já a tensão de corte funciona muito bem nas maioneses *Low-fat*, e é praticada sobre as maioneses ainda congeladas com o recurso a uma espátula em movimentos circulares, de maneira a criar a maior área de superfície possível. Depois deste procedimento, realiza-se o descongelamento lento a  $5^{\circ}\text{C}$  durante duas horas, como descrito anteriormente.

O resultado da quebra da emulsão é apresentado na Figura 12. Após a quebra da emulsão, as amostras são centrifugadas a 4000 rpm, durante 20 minutos. O sobrenadante pode depois ser utilizado na determinação do índice de peróxidos, pela norma NP EN ISO 3960:2004.

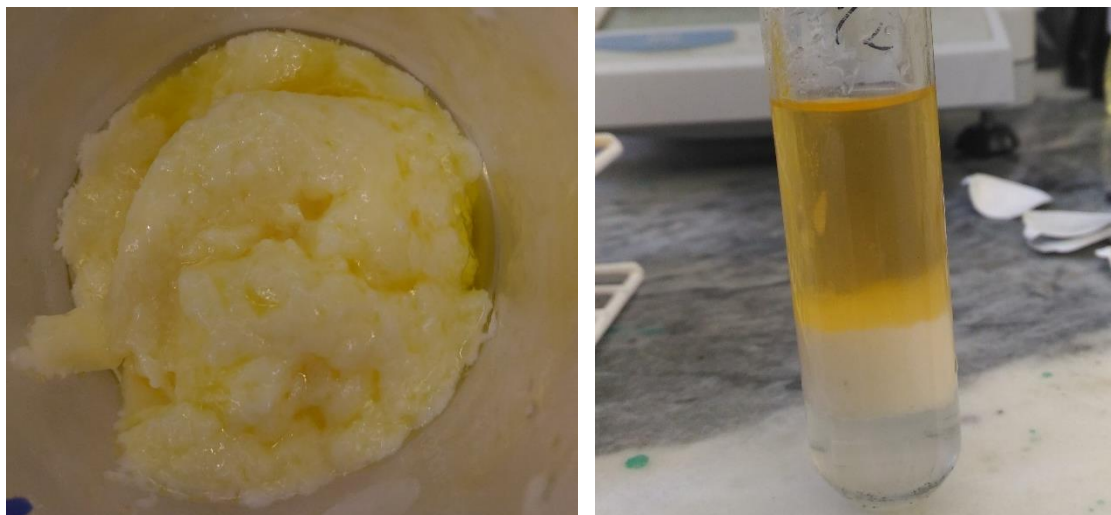


Figura 12 - Resultado do método de separação de fases construído neste trabalho, antes e após a centrifugação.

### 3.6 Determinação do Índice de p-Anisidina (IpA)

O índice de p-anisidina permite medir os produtos secundários da oxidação lipídica e é determinado por um método espectrofotométrico.

Após a formação de peróxidos e com o desenvolvimento da rancificação, estas espécies instáveis tendem a decompor-se em produtos secundários da oxidação, nomeadamente aldeídos insaturados, moléculas responsáveis pelo cheiro e sabor rancidos característicos de óleos oxidados.

Estes aldeídos, ao reagirem com o reagente p-anisidina, formam um composto dotado de cor, que pode ser quantificado por espectrofotometria (O'Keefe & Pike, 2010).

Uma vez que o desenvolvimento dos produtos secundários da oxidação lipídica apenas se verifica após a decomposição dos produtos primários, a técnica de determinação de IpA apenas foi aplicada a partir do momento em que se verificou um decréscimo do PV.

Num balão volumétrico de 25 mL introduziu-se uma toma de ensaio de óleo com uma massa (m) entre 0,5 a 2g, dependendo do índice de p-anisidina previsto, e perfez-se o volume do balão com isooctano. Esta solução passa a chamar-se de solução A (Agregán, et al., 2016).

Foi então medida a absorvância da solução A a 350nm usando isooctano como branco. O valor de absorvância obtido foi nomeado de  $Abs_b$  (Silva, 2008).

Independentemente preparou-se a solução de p-anisidina pela dissolução de 0,125 g de p-anisidina com ácido acético glacial num balão volumétrico de 50 mL (Silva, 2008).

A 5 mL da solução A adicionou-se 1 mL da solução de p-anisidina, agitou-se e foi guardada 10 minutos no escuro antes de medir a absorvância a 350 nm. O branco usado foi uma solução com 5 mL de isooctano e 1 mL da solução de p-anisidina. À absorvância medida deu-se o nome de  $Abs_s$  (Hsieh & Regenstein, 1991; Kwon, et al., 2015)

A equação (15) mostra a relação entre as absorvâncias medidas e o índice de p-anisidina ( $IpA$ ).

$$IpA = 25 \times \frac{1,2Abs_s - Abs_b}{m} \quad (15)$$

Para as maioneses, em semelhança ao descrito para a determinação do índice de peróxidos, é necessário separar o óleo, como está descrito no ponto 3.5.2, para que este possa ser analisado por este método.





## 4 Resultados e Discussão

### 4.1 Estudo de Antioxidantes

#### 4.1.1 Maionese *Low-fat*

As maioneses *Low-fat* – (L) contêm apenas 24% de óleo na sua composição. De forma a conferir corpo a estas maioneses sem adicionar tanto óleo como nas maioneses normais é necessário adicionar outros ingredientes, como amidos que, para além de aumentarem a viscosidade destas, tornam a emulsão mais estável, dificultando a sua quebra. A estabilidade da emulsão aliada à baixa percentagem de óleo presente, dificultou o trabalho de extração do óleo para a determinação de PV e IpA.

Assim sendo, e principalmente no início do trabalho, quando não estava ainda aperfeiçoada a técnica de extração descrita no ponto 3.5.2, houve o desperdício de diversas amostras de maionese *Low-fat* por não se conseguir proceder à separação do óleo.

Na Figura 13 apresentam-se os resultados obtidos pela determinação do Índice de Peróxidos nas maioneses com 24% de óleo, na presença de diferentes antioxidantes. Neste gráfico apresentam-se ainda os resultados obtidos no estudo acelerado em câmara climática a tracejado.

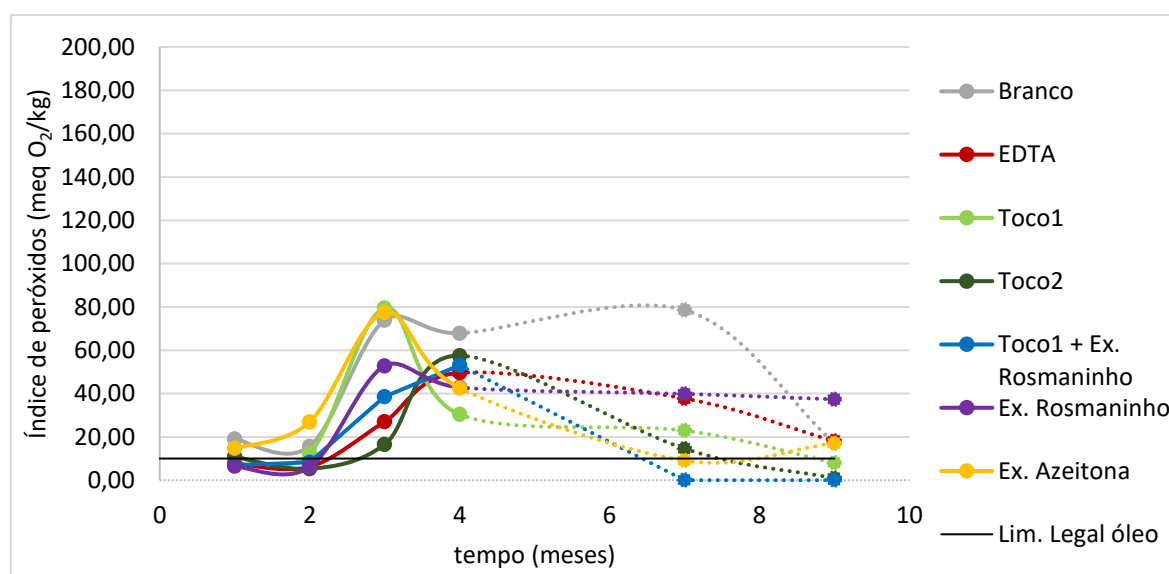


Figura 13 - Representação gráfica da evolução do índice de peróxidos nas maioneses *low-fat*, no estudo de antioxidantes. A tracejado apresentam-se os resultados obtidos em estufa.

Pela análise da Figura 13 observa-se que os valores de PV, em alguns casos, aproximam-se de 80 meq O<sub>2</sub>/kg, muito acima dos 10 meq O<sub>2</sub>/kg admitidos para óleos, o que se verifica logo após o 3º mês de prateleira.

As maioneses produzidas com os antioxidantes Extratos de Azeitona, Toco1, Extratos de Rosmaninho e o Branco atingem um pico aos 3 meses após a produção. A partir deste ponto observa-se um decréscimo do PV, sinal de que os produtos primários de oxidação estão a decompor-se em produtos secundários. Contrariamente, nas maioneses com Toco1+Extrato de Rosmaninho, EDTA e Toco2 o PV continua em crescimento no quarto mês, o que indica que ainda não houve formação de produtos secundários responsáveis pelo sabor e cheiro rancido.

À partida, o Branco, por não incluir nenhum antioxidante, deveria ser a maionese com pior desempenho. No entanto, a maionese com Extratos de Azeitona apresenta sempre um PV mais elevado do que o Branco, exceto após o pico máximo, o que parece indicar que os peróxidos se decompuseram mais rapidamente. Desta forma, os Extratos de Azeitona parecem mostrar um ligeiro efeito pro-oxidante ao promover a oxidação lipídica (comparando com o branco), ao invés de a impedirem. Os extratos de azeitona já haviam sido identificados como possíveis pro-oxidantes em sistemas complexos (McDonald, et al., 2001).

Da mesma forma, a maionese com o antioxidante Toco1 aproxima-se do comportamento do Branco.

Por outro lado, o antioxidante Toco2 consegue um PV inferior ao EDTA, podendo este ser um sinal de que este antioxidante seja um bom substituto do EDTA. No entanto, no quarto mês sofre um aumento de PV, alcançando um valor superior ao EDTA.

Tal como indicado pela bibliografia, a conjugação do antioxidante Toco1 com os Extratos de Rosmaninho resultou em PVs inferiores aos encontrados para as maioneses obtidas utilizando os antioxidantes em separado, assemelhando-se ao EDTA, com valores mais elevados do que este apenas nos meses 3 e 4. Este comportamento corrobora a teoria da acção sinérgica entre os extratos de rosmaninho e tocoferóis, descrita por vários autores (Hraš, Hadolin, Knez & Bauman, 2000; Panya, et al., 2012).

Os resultados obtidos para o Índice de p-Anisidina, que permite quantificar a formação de produtos secundários da oxidação lipídica, são apresentados na Figura 14. Esta análise permite compreender melhor o comportamento dos antioxidantes.

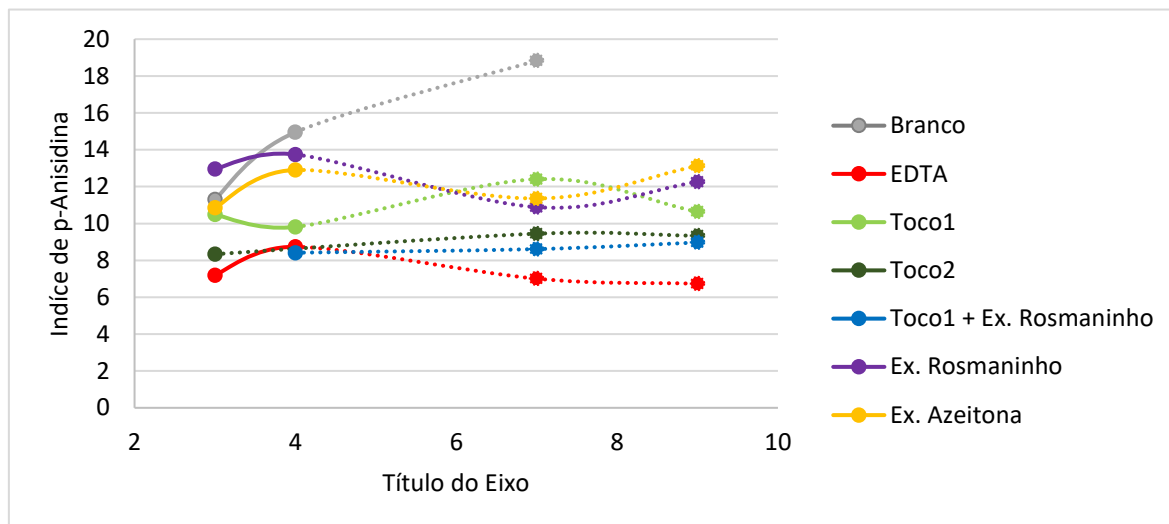


Figura 14 - Representação gráfica da variação do Índice de p-Anisidina ao longo do tempo em maioneses *low-fat*. A tracejado são apresentados os resultados obtidos em estufa.

Por exemplo, no caso dos Extratos de Rosmaninho, este antioxidante tinha um comportamento intermédio na inibição de formação de peróxidos (Figura 13). No entanto, a Figura 14 mostra que foi um dos antioxidantes que pior evitou a formação de produtos secundários.

Uma das razões para este fenómeno foi apresentada anteriormente no ponto 2.4.4 onde é explicado que os compostos ativos existentes nos extratos de rosmaninho têm uma função antioxidante principalmente primária, agindo sobre os iniciadores das reações de oxidação, nomeadamente sobre metais e radicais livres. Após a criação de peróxidos, o carnosol e ácido carnósico têm pouca eficácia a impedir a sua decomposição em produtos de oxidação secundários.

Efeito semelhante é identificado nos extratos de azeitona, por também serem ricos em compostos fenólicos com capacidade de quelar metais e radicais livres. No entanto, neste caso, os extratos de azeitona para além da baixa eficácia a prevenir a oxidação secundária, têm também um pobre efeito a evitar a oxidação primária. Assim, por comparação, o hidrotixirosol e as oleuropeínas parecem ter menor capacidade antioxidante do que o carnosol, ácido carnósico e ácido rosmarínico, neste tipo de maioneses.

No outro lado do espectro temos o EDTA, que para além de ter o melhor comportamento na oxidação primária, é também o antioxidante que melhor controla a formação de compostos secundários.

Os antioxidantes mais complexos, nomeadamente, Toco2 e Toco1+Extratos de Rosmaninho, continuam a assemelhar-se ao EDTA.

De forma a conjugar os dados de oxidação primária e secundária, calculou-se o valor de TOTOX, de acordo com a equação (12). Os resultados obtidos estão representados na Figura 15.

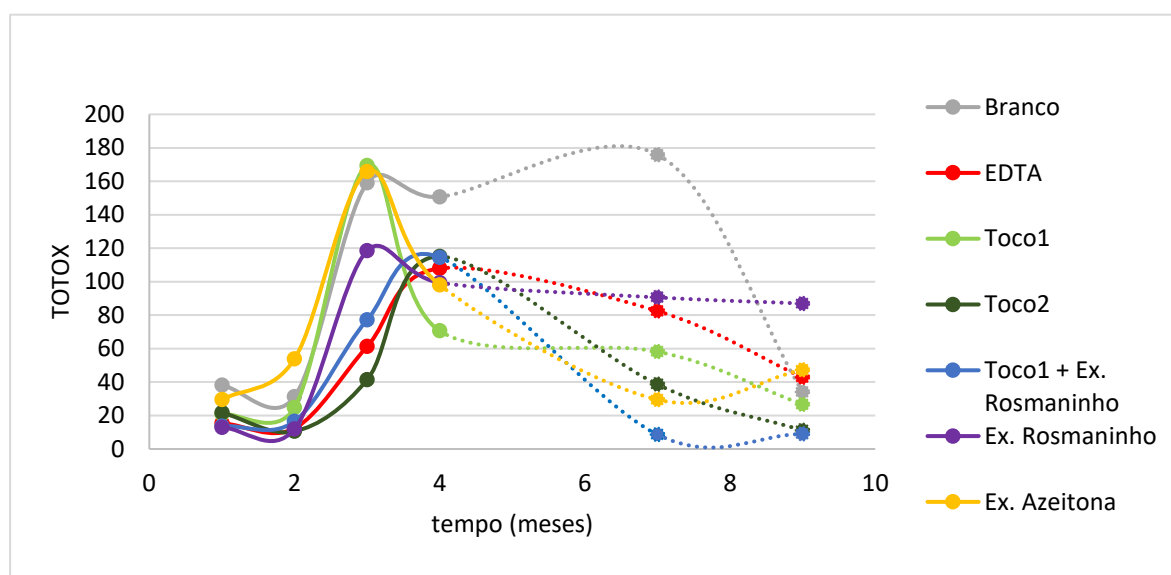


Figura 15 - Representação gráfica do valor de TOTOX, ao longo do tempo para maioneses *low-fat*. A tracejado são apresentados os valores obtidos no estudo acelerado em estufa.

Os resultados do TOTOX consolidam os resultados obtidos anteriormente, sendo os melhores resultados os associados ao EDTA, Toco2 e Toco1+Extratos de Rosmaninho. Por outro lado, os piores resultados são os do Branco, Toco1 e Extratos de Azeitona.

As maioneses foram também acompanhadas ao longo do tempo por provas sensoriais, com foco no sabor, odor, aspeto e textura. Para a deteção do desenvolvimento de ranço, são sobretudo relevantes as alterações de sabor e odor.

Organoleticamente, estas maioneses apresentavam um sabor fresco a limão desde o começo do estudo, apenas se diferenciando os Extratos de Azeitona por conferirem à maionese um sabor e cheiro ligeiramente diferente, predominantemente aromático.

A evolução da percepção do sabor destas maioneses é apresentada na Figura 16, numa escala de 1 a 7, de acordo com a alteração identificada no paladar. E pela análise desta imagem identifica-se que o Branco começa a partir do 2º mês a perder as suas características organoléticas iniciais, passando a barreira do aceitável, 4, (ver Figura 9) ao 3º mês, deteriorando-se rapidamente nos meses seguintes até conseguir uma classificação de 1 ao 9º mês.

Assim, o Branco é claramente a amostra com pior comportamento organolético, contudo, a maionese com Toco1 comporta-se de forma semelhante, mas com uma deterioração de sabor um pouco mais lenta, corroborando os dados obtidos para PV e IpA.

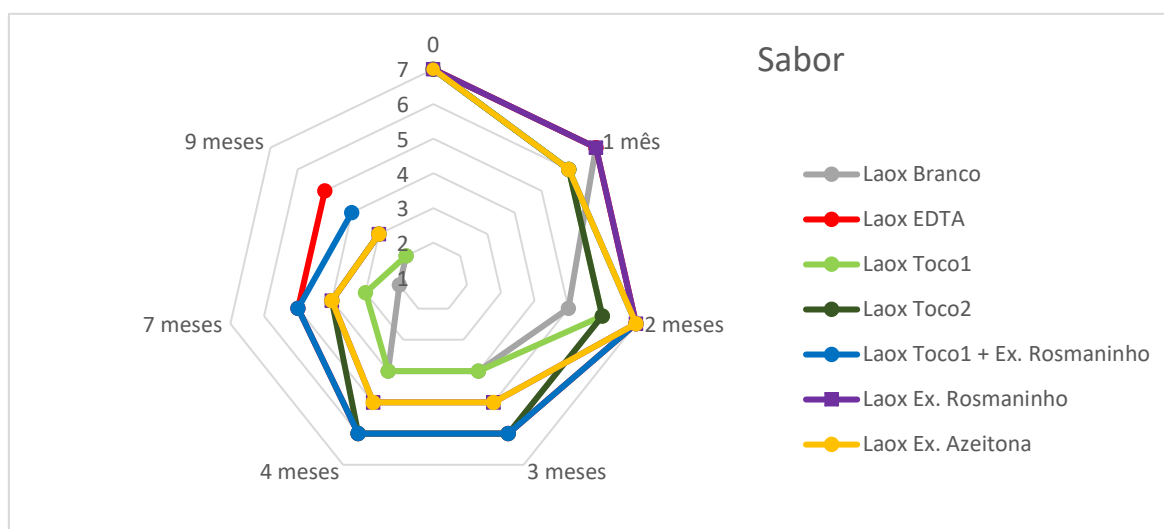


Figura 16 - Variação da percepção de sabor ao longo dos meses nas maioneses *Low-fat*. Escala: 1 – Extremamente alterado; 7 – Nada Alterado.

Tal como foi verificado nos parâmetros anteriores, o EDTA continua a ser o melhor antioxidante, promovendo a estabilidade do sabor ao longo do tempo, uma vez que nunca obteve uma pontuação de sabor inferior a 5. Próximo do EDTA identificou-se a combinação Toco1+Extratos de rosmaninho, que apenas obtém uma pontuação de 4 no último mês de estudo. Seguidamente temos o Toco 2 que manteve um perfil organolético constante ao longo de todo o tempo, exceto nos testes em estufa.

De seguida, com comportamento intermédio, posicionam-se os extratos de rosmaninho e de azeitona que têm um comportamento em tudo semelhante, exceto no 1º mês. Este resultado não é concordante com o obtido no índice de peróxidos e TOTOX, uma vez que os extratos de azeitona tinham sido classificados com um dos piores antioxidantes.

Este facto pode ser resultado das características aromáticas dos extratos de azeitona, ao encobrirem o sabor do ranço.

#### 4.1.2 Maionese *Medium-fat*

As maioneses *Medium-fat* - M produzidas contêm 65% de óleo na sua constituição e os resultados obtidos para a investigação de PV nestas maioneses, produzidas com diferentes antioxidantes, são apresentados na Figura 17. A tracejado são apresentados os resultados obtidos após 70 e 90 dias, respetivamente, em câmara climática.

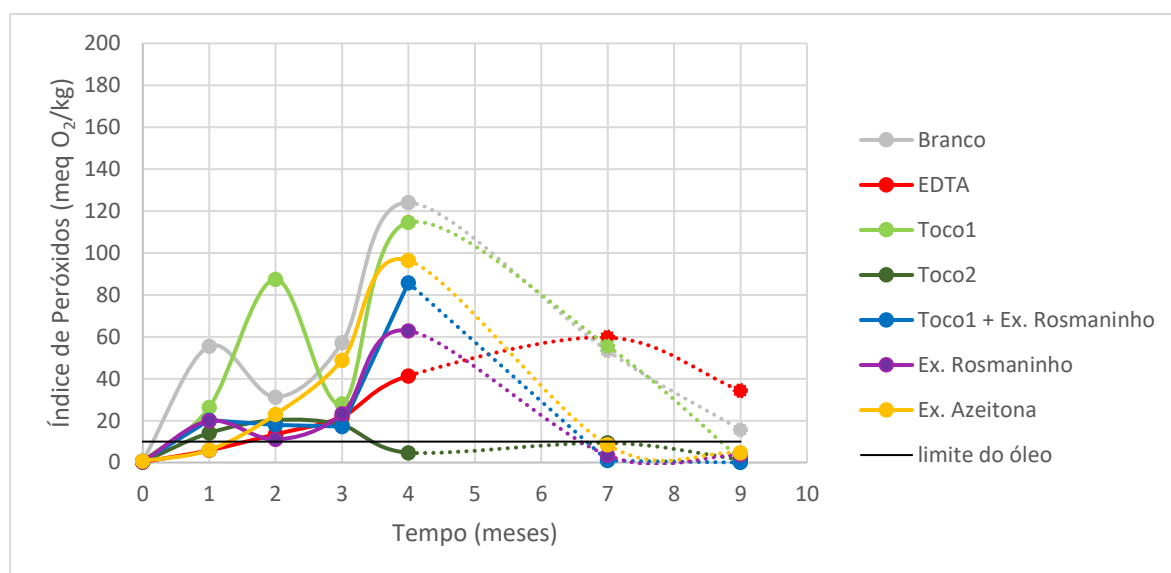


Figura 17 - Representação gráfica do comportamento de antioxidantes nas maioneses *medium-fat*, avaliado em Índice de Peróxidos. A tracejado apresentam-se os resultados obtidos após envelhecimento acelerado em estufa.

As maioneses *Medium-fat* foram aquelas que apresentaram um comportamento mais irregular, observando-se a formação de dois picos de PV com vários antioxidantes, nomeadamente, com a utilização do Toco1 e dos Extratos de Rosmaninho e no Branco da experiência. Os Extratos de rosmaninho e o Toco1+Extratos de Rosmaninho também parecem formar mais do que um pico, no entanto a amplitude deste pico é tão baixa que poderá dever-se a um erro experimental, oriundo da sensibilidade do material de estudo.

Pela observação do gráfico da Figura 17, é visível que a maionese sem antioxidantes foi a primeira a atingir um pico de oxidação lipídica notável, durante o 1º mês. De seguida,

no terceiro mês, observa-se um pico do Toco1 e Toco2. No entanto, embora atinjam um máximo na mesma altura, estes dois antioxidantes comportam-se de maneira muito distinta, sendo que os resultados do Toco1 são muito altos, enquanto que os do Toco2 se aproximam dos resultados obtidos para o EDTA.

Estes dois antioxidantes, embora com uma base semelhante, sendo compostos por tocoferóis em óleo de girassol, diferem pelo facto do Toco2 ter ainda na sua composição lecitina e palmitato de ascorbilo. Os resultados obtidos sugerem que a adição destes dois compostos ativos permite que os tocoferóis tenham um bom desempenho, contrariamente ao que acontece quando aplicado isoladamente.

Da mesma forma, o facto de adicionarmos extratos de rosmaninho aos tocoferóis em Toco1, melhoramos o comportamento do antioxidante isolado.

De forma a avaliar o desenvolvimento de produtos secundários de oxidação, apresenta-se na Figura 18 os resultados obtidos de IpA, à semelhança dos apresentados para PV na Figura 17.

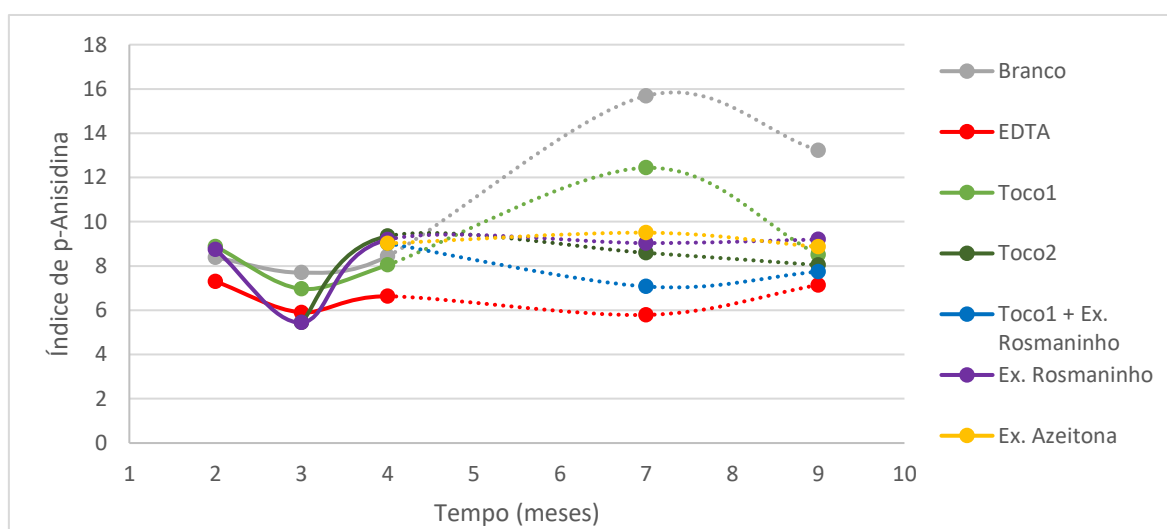


Figura 18 - Representação gráfica dos resultados obtidos para o Índice de Anisidina para as maioneses *medium-fat*, para o estudo de antioxidantes.

Com os resultados de estufa, verificamos que o EDTA, embora tenha um valor muito elevado de PV, comparativamente com as restantes, apresenta os valores de IpA mais baixos, o que indica que passados os 70 e 90 dias em estufa, a maionese com EDTA encontra-se numa fase de oxidação anterior às restantes maioneses que já converteram uma maior

quantidade de peróxidos em produtos secundários de oxidação. O Toco1+Extratos de Rosmaninho, embora já tenha um PV muito baixo, conseguiu controlar a formação de produtos secundários melhor do que outros antioxidantes naturais.

Contemplando o panorama geral da oxidação lipídica, tendo presente os valores de TOTOX, apresentados na Figura 19, concluímos que o antioxidante Toco2 será o antioxidante natural que se comporta melhor nestas maioneses, especialmente nas maioneses armazenadas em estufa, obtendo resultados inclusive inferiores aos registados para o EDTA.

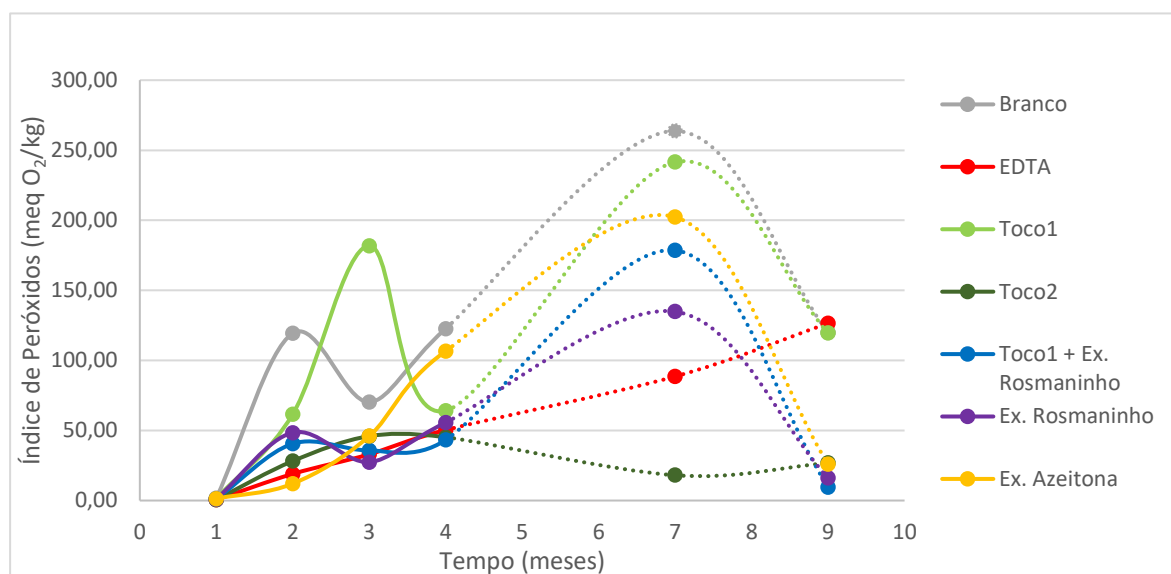


Figura 19 - Representação gráfica dos valores de TOTOX registados pelas maioneses *medium-fat*, ao longo do tempo.

E tal como verificado nos parâmetros anteriores, o Toco1 continua a ser o antioxidante com piores resultados nesta maionese.

À partida, a maionese produzida com Extratos de azeitona diferenciava-se das restantes por ter um sabor característico, aromático, mas não desagradável, e por apresentar uma cor ligeiramente diferente destas. Já as maioneses com antioxidantes baseados em tocoferóis, apresentavam um ligeiro sabor característico a verde e os extratos de rosmaninho conferiram-lhes um sabor adocicado.

Na Figura 20 observa-se o perfil de variação de sabor nestas maioneses, com classificações de 1 (Extremamente alterado) a 7 (Nada alterado), como descrito na Figura 9.



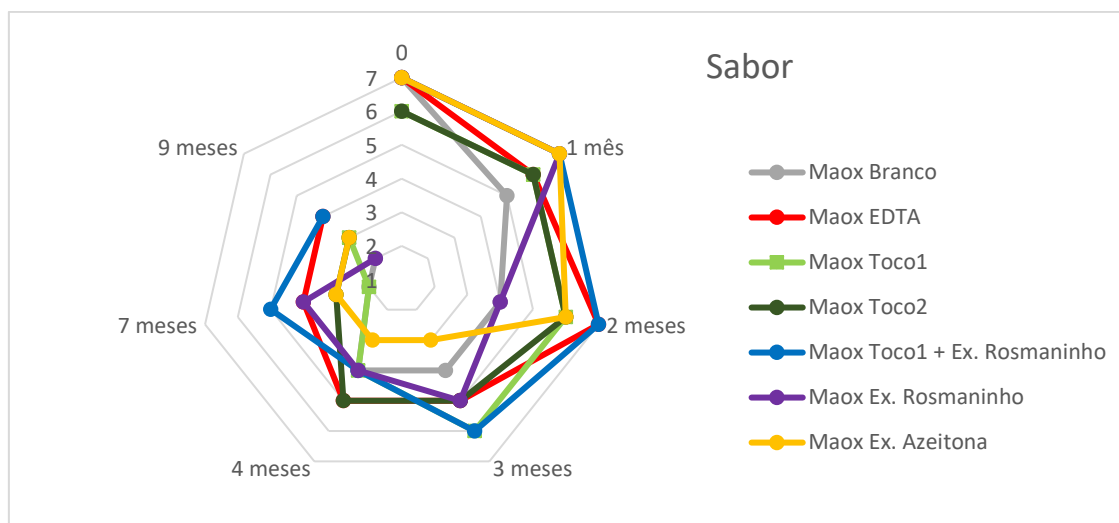


Figura 20 - Variação da percepção de sabor ao longo dos meses nas maionese *medium-fat*. Escala: 1 – Extremamente alterado; 7 – Nada Alterado

Nestas maionese o sabor degradou-se muito mais rapidamente do que verificado para as maionese *Low-fat*, à semelhança do que aconteceu com o PV.

O branco é mais uma vez, a amostra que perde as suas características organoléticas iniciais mais rapidamente, atingindo a classificação de 4 após apenas dois meses de prateleira. Nos ensaios em estufa obteve sempre uma classificação muito baixa.

Por outro lado, o antioxidante que apresenta melhor comportamento organolético nestas maionese é a mistura Toco1+Extratos de Rosmaninho conseguindo algumas classificações até superiores às registadas para o EDTA.

O Toco2, embora seja o melhor antioxidante em termos de índice de peróxidos, não consegue uma performance tão impressionante em termos de sabor, obtendo classificações intermédias até ao 4º mês, no entanto é possível identificar um sabor forte a ranço ao 7º mês.

#### 4.1.3 Maionese *Fat*

A *real mayonnaise* ou *fat* – F com 80% de óleo, por conter uma percentagem de óleo tão elevada, não necessita de tantos ingredientes adicionais de forma a conferir-lhe estabilidade. Desta forma esta maionese é a mais simples das três.

Na Figura 21 apresentam-se os resultados obtidos de Índice de Peróxidos para estas maioneses alterando o antioxidante na composição das mesmas. Com esta imagem pretende-se mostrar o desenvolvimento de produtos de oxidação primária, associados diretamente ao desenvolvimento de ranço.

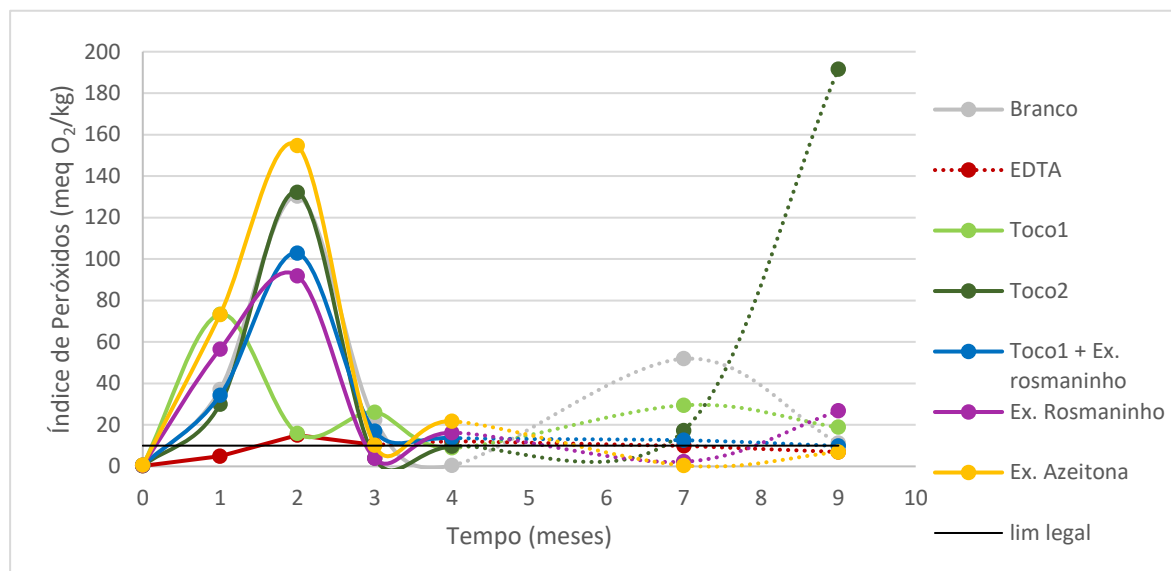


Figura 21 - Representação gráfica da variação do índice de peróxidos ao longo do tempo nas maioneses *Fat*, para o estudo de antioxidantes.

Tendo como ponto de partida o Branco, que por não conter nenhum antioxidante na sua composição, deveria ser a maionese com pior comportamento, verifica-se que a maionese com extratos de azeitona, embora apresente uma curva semelhante ao Branco, atinge valores superiores a este. Estes resultados apontam para que os extratos de azeitona, em vez de limitarem a oxidação lipídica nestas maioneses, a promovem, mostrando um efeito pro-oxidante.

O Toco2, embora nas maioneses anteriores apresentasse um bom comportamento, nesta maionese torna-se idêntico ao Branco. O Toco1+Extratos de rosmaninho comporta-se de maneira semelhante. O que estas maioneses têm em comum é que os antioxidantes que as constituem são misturas de tocoferóis e de compostos com capacidade de regenerar tocoferóis. Uma das razões possíveis para este fenómeno é, e tal como foi referido no ponto 2.4.4, a concentração de tocoferóis presente. Tal como se disse, os tocoferóis têm a peculiaridade de apresentarem um efeito pro-oxidante a concentrações elevadas. Uma vez que o óleo de girassol tem naturalmente na sua constituição tocoferóis, por estarmos perante

uma concentração tão elevada de óleo, a quantidade de tocoferóis também será superior ao existente nas maioneses L e M, podendo ter-se ultrapassando a concentração máxima conducente a um bom comportamento dos tocoferóis como antioxidantes (Jacobsen, et al., 2008; Let, et al., 2007; Saarela, 2011).

De forma a corroborar ou desmentir esta hipótese explicativa, poderão ser feitos, no futuro, estudos que permitam averiguar a concentração de tocoferóis existente nos óleos e o ponto a partir do qual perdem o seu efeito antioxidante.

Os produtos de oxidação secundários, medidos em Índice de p-Anisidina, para as maioneses com 78% de óleo, são apresentados na Figura 22. Verifica-se que, no quarto mês de estudo, as maioneses com Extratos de rosmaninho, Extratos de azeitona e Toco1+Extratos de rosmaninho permitiram a formação de um número mais elevado de produtos secundários de oxidação do que o Branco da experiência.

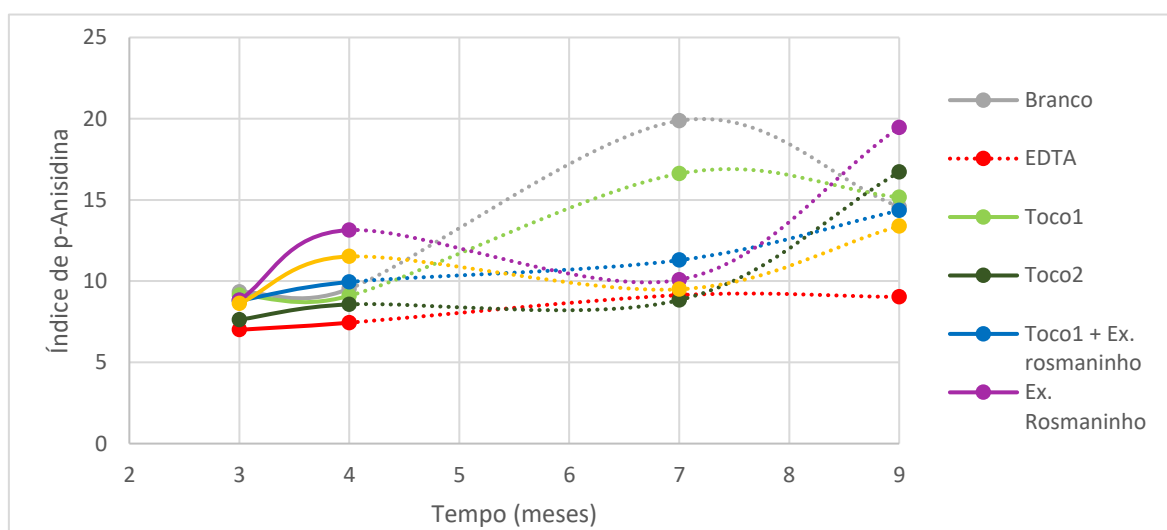


Figura 22 - Representação gráfica dos Índices de p-Anisidina obtidos para as maioneses *Fat*.

No entanto, as maioneses com Toco1 e Toco2, embora tenham obtido maus resultados de PV, estão entre os melhores resultados, no que toca ao IpA.

No que diz respeito à prova sensorial, em semelhança ao verificado nas maioneses *Medium-fat*, os tocoferóis conferiram às maioneses um sabor um pouco desagradável. Ao passo que antioxidantes como Extratos de Azeitona e Rosmaninho tornaram as maioneses mais agradáveis ao palato.

O resultado da apreciação do sabor das maioneses ao longo do tempo é apresentado na Figura 23. Nesta figura ressalta a supremacia do EDTA que consegue manter o sabor das maioneses sensivelmente inalterado durante um longo período de tempo.

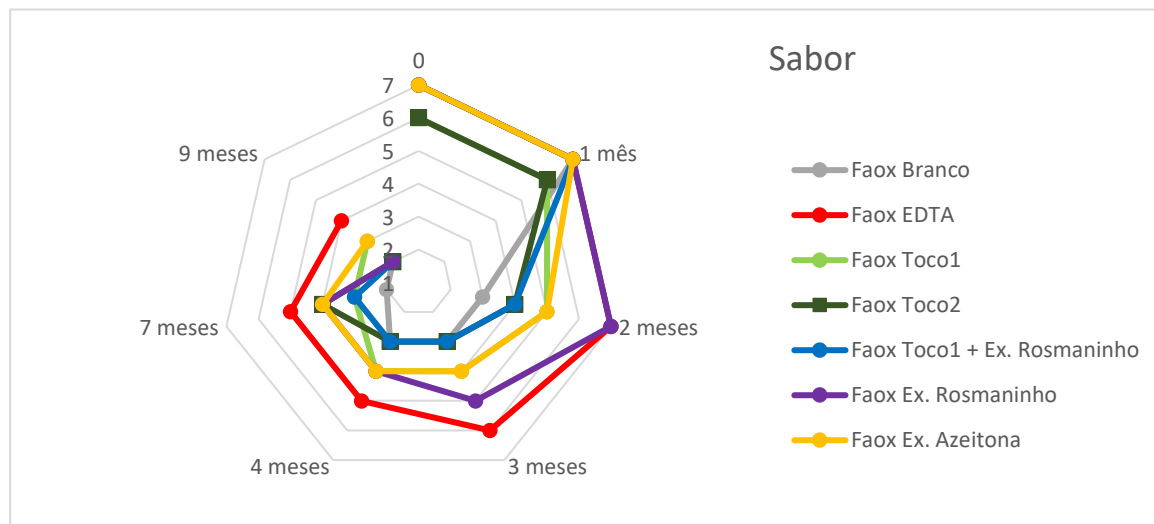


Figura 23 - Avaliação do sabor das maioneses *Fat*. Escala: 1- Extremamente alterado; 7 - Nada alterado.

Neste tipo de maionese é óbvia a degradação de sabor na maionese sem antioxidante, adquirindo um sabor forte a ranço logo a partir do 2º mês. E com uma deterioração semelhante ao branco, mas menos intensa no 2º mês, temos as maioneses com os antioxidantes Toco2 e Toco1+Extratos de Rosmaninho, contrariamente ao identificado nas maioneses *Low-fat* e *Medium-fat*, no entanto, em concordância com os resultados obtidos de PV.

Tal como identificado para a maionese *Low-fat*, os extratos de azeitona, embora dêem origem a valores de oxidação elevados, conseguem uma nota de sabor razoável, indicando que, possivelmente, as características aromáticas intensas destes extratos ocultam ou ofuscam o sabor a ranço.

Com comportamento similar ao EDTA apenas se verificam os Extratos de Rosmaninho, que se comportam melhor do que a combinação destes com o Toco1.

## 4.2 Condições de Produção e Armazenamento

### 4.2.1 Temperatura do óleo e Headspace

Assim como referido na Figura 8, foi feito um estudo à influência da temperatura do óleo usado na oxidação lipídica da maionese com o uso de duas temperaturas distintas:

- Tamb, óleo mantido à temperatura ambiente, cerca de 20°C, sem sofrer qualquer aquecimento;
- Tq, óleo sujeito a aquecimento até à temperatura de 40°C, na qual foi mantido durante 5 minutos.

Este estudo foi conduzido, em semelhança ao ocorrido no estudo de antioxidantes, para os três tipos de maioneses, no entanto sempre com o uso do antioxidante EDTA.

Com as maioneses produzidas para este fim, foi também avaliada a influência que o espaço de cabeça existente numa embalagem tem na oxidação lipídica do produto final. As maioneses produzidas foram assim armazenadas de três maneiras distintas como explicado no ponto 3.1.2.:

- **Cheio;**
- **2/3**, as embalagens foram cheias até 2/3 da sua capacidade;
- **1/2**, as embalagens foram preenchidas até metade da sua capacidade.

### **Maioneses *Low-fat***

Os resultados deste teste para as maioneses *Low-fat* são apresentados na Figura 24, permitindo comparar na mesma imagem a influência da temperatura do óleo e o headspace da embalagem.

Pela análise da figura observa-se que as maioneses mantidas em embalagens cheias permitiram um menor desenvolvimento de peróxidos e que, em geral, quanto mais vazia a embalagem, maior o índice de peróxido atingido, estabelecendo-se uma dependência entre tamanho do headspace e o desenvolvimento de ranço nas maioneses.

No que toca à influência da temperatura do óleo, nos primeiros quatro meses do estudo as maioneses produzidas com óleo a 40°C, cheias, obtiveram valores de PV superiores às suas homólogas produzidas com óleo à temperatura ambiente. No entanto este fenómeno não se verifica nos ensaios em estufa (7 e 9 meses), podendo as maioneses produzidas com óleo a 40°C, cheias, terem já experienciado um pico antes dos “7 meses”, tratando-se talvez de uma situação em que, embora o PV seja baixo, o nível de rancificação seja alto, graças à transformação de peróxidos em produtos secundários da oxidação. De forma a corroborar esta afirmação seria necessário proceder à análise do IpA para estas maioneses ao longo do intervalo de 4 a 9 meses.

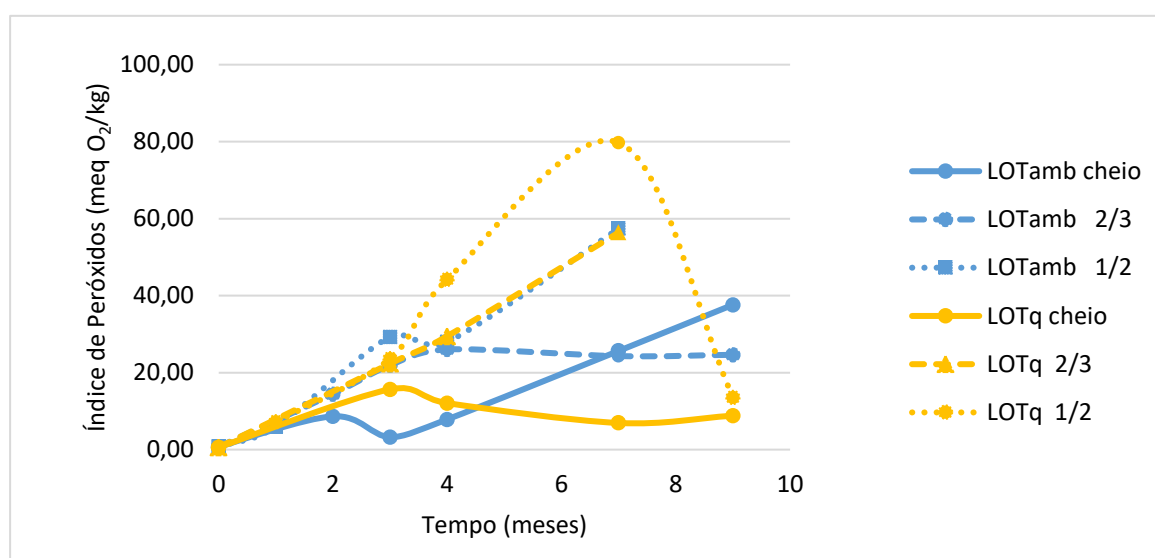


Figura 24 - Representação gráfica dos resultados de Índice de Peróxido obtidos nos estudos da influência da temperatura e headspace nas maioneses *Low-fat*.

Nas maioneses acondicionadas em embalagens a 2/3 ou 1/2, e num ponto mais avançado da experiência, a partir do 4º mês, verifica-se que as maioneses produzidas com óleo a 40°C apresentam valores de PV superiores às maioneses preparadas com óleo à temperatura ambiente. Verifica-se também que, quanto maior o headspace existente, maior o nível de rancificação.

Tenhamos presente, por exemplo os valores aos “7 meses”, em que o valor de PV mais elevado é o da maionese produzida com óleo quente em embalagem 1/2, seguida da maionese com óleo quente em embalagem 2/3 que tem valores equiparados com a maionese com óleo à temperatura ambiente, mas em embalagem 1/2. Sugerindo que a temperatura do óleo tem maior importância para a estabilidade oxidativa das maioneses quando estas são

armazenadas com headspace, já que a presença de ar é um fator iniciador da oxidação lipídica.

### Maioneses *Medium-fat*

Da mesma forma que aconteceu para as maioneses *low-fat*, os resultados obtidos para o PV das maioneses *Medium-fat* são apresentados na Figura 25.

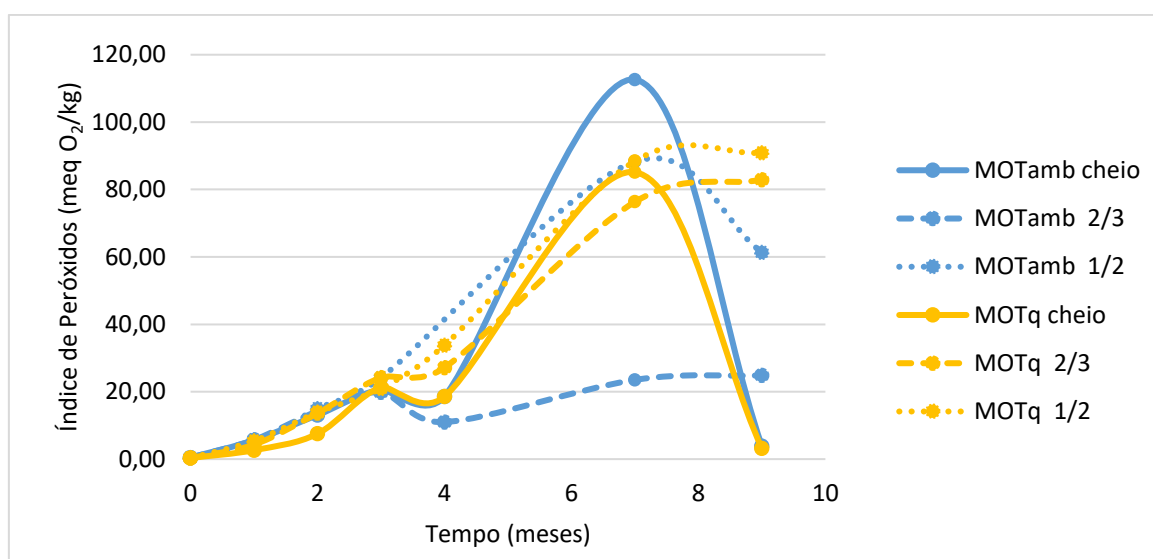


Figura 25 - Representação gráfica dos resultados de PV obtidos no estudo da influência da temperatura do óleo e headspace em maioneses *medium-fat*.

No entanto, neste caso, as amostras armazenadas em embalagens cheias não se destacam das restantes pela positiva como verificado no caso anterior, e nestas embalagens cheias, as produzidas com óleo quente andam par-a-par com as produzidas com óleo à temperatura ambiente, exceto nos meses 2 e 7, em que as maioneses com óleo sem aquecimento apresentam valores de PV superior às suas homólogas, contrariamente ao que seria de esperar.

Não existindo diferenças notáveis durante os primeiros três meses de estudo, no quarto mês parece haver um desenvolvimento de peróxidos maior nas maioneses com óleo a 40°C, e esta tendência manteve-se no 7º e 9º mês nas maioneses a 2/3 e 1/2. As diferenças mais perceptíveis estão nas maioneses em embalagens não cheias, indicando que nestas maioneses *medium-fat*, a temperatura do óleo tem especial influência na presença de oxigénio.

## Maioneses *Fat*

Nas maioneses *fat*, o armazenamento com mínimo headspace permite que mantenham a oxidação em valores mínimos, principalmente se produzidas com óleo a temperatura ambiente, como se apresenta na Figura 26. No caso das maioneses em embalagens cheias, a FOTq apresenta valores ligeiramente inferiores à FOTamb nos últimos meses de determinação, e pensa-se que estes resultados se devem à existência de um pico de PV em torno do mês 4, indicando que a partir deste mês diminui o teor de PV, mas, provavelmente aumentaram os produtos secundários de oxidação.

No entanto, os resultados em embalagens cheias até 2/3 e 1/2 parecem indicar que o aquecimento do óleo permitiu valores de PV inferiores aos registados com óleo à temperatura ambiente, o que é um resultado não expectável e de difícil explicação. Serão necessários novos testes com temperaturas de óleo mais elevadas para eventualmente corroborar estes dados, uma vez que vão contra os princípios conhecidos da oxidação lipídica.

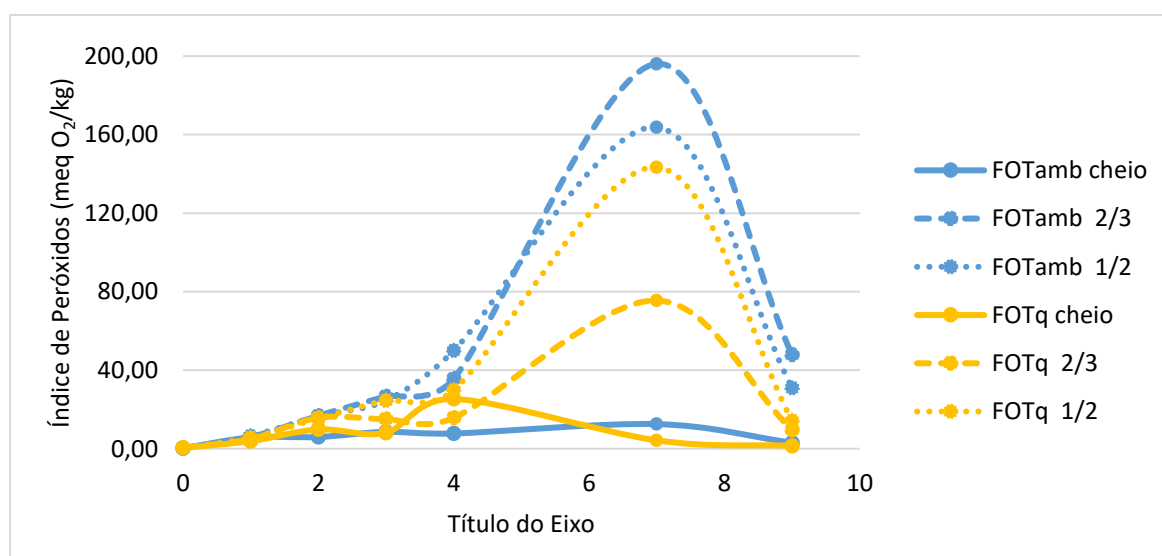


Figura 26 - Representação da evolução de PV em maioneses *fat*, avaliando a influência da temperatura do óleo utilizado e o tamanho do headspace da embalagem.

Com estes resultados, de um modo geral, embora não seja possível comprovar a influência da temperatura do óleo na oxidação lipídica nem a linearidade entre a quantidade de oxigénio presente na embalagem e o nível de oxidação atingido, pode dizer-se que



armazenar-se maioneses em embalagens cheias é uma boa prática a ter em mente para minimizar o desenvolvimento da oxidação lipídica e consequente rancificação.

#### 4.2.2 Qualidade da água

No estudo da influência da qualidade da água foram feitas maioneses com água de condutividade  $200\mu\text{S}/\text{cm}$ , de forma a simular a condutividade atingida após o tratamento de osmose inversa a instalar na empresa. Estas maioneses produzidas com Água Tratada (AT) foram identificadas como LAT, MAT e FAT, dependendo do seu tipo. De forma a comparar os resultados obtidos deste estudo com as mesmas maioneses produzidas com a água normal, foi utilizado como controlo os resultados obtidos no ponto anterior para as maioneses produzidas com óleo à temperatura ambiente e com a embalagem completamente cheia: LOTamb cheio, MOTamb cheio e FOTamb cheio, respetivamente. Estes resultados aparecem doravante com a designação de Lcontrolo, Mcontrolo e Fcontrolo.

Estas maioneses foram sujeitas a determinações de Índice de Peróxidos, tal como indicado no ponto 3.5. Os resultados deste estudo são apresentados na Figura 27, juntamente com os dados de controlo. A tracejado apresentam-se os resultados obtidos no estudo de armazenamento acelerado em estufa, realizado como descrito no ponto 3.2.

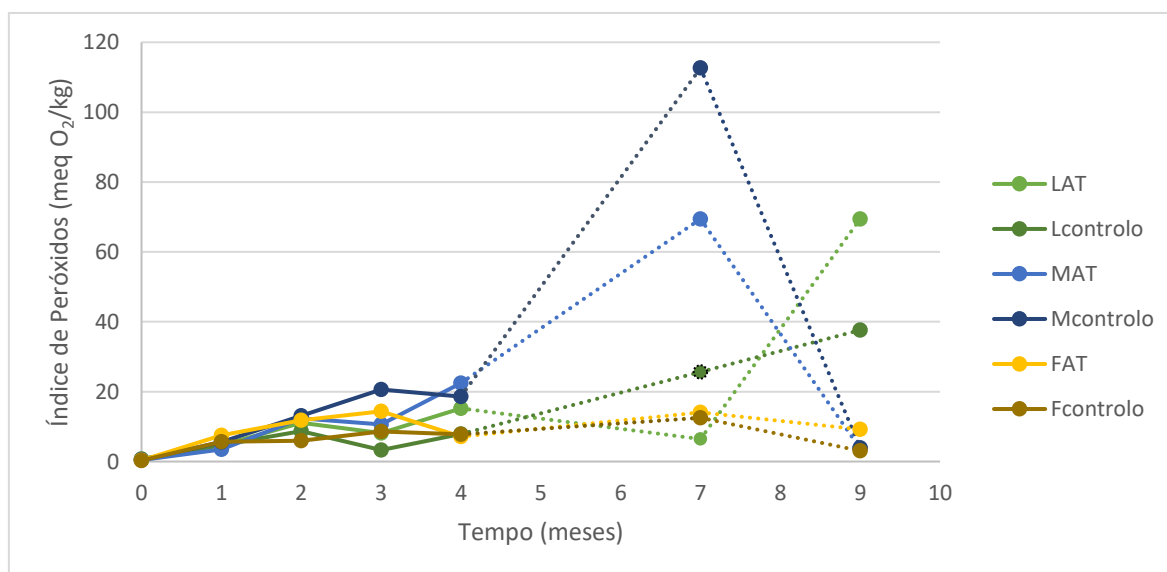


Figura 27 - Representação gráfica do Índice de Peróxidos obtidos para maioneses *low-fat*, *medium-fat* e *fat*, produzidas com água tratada, em comparação com maioneses de controlo, semelhantes, mas produzidas com água não tratada.

Por se tratarem de maioneses produzidas com o antioxidante EDTA, todos os resultados relativos a condições normais de armazenamento apresentam valores de PV bastante mais baixos que os experienciados para maioneses com antioxidantes distintos, como discutido nos pontos anteriores.

Na maionese *Low-fat* e *fat*, a introdução de água tratada parece aumentar a oxidação lipídica da emulsão ao possibilitar o aparecimento de valores de PV ligeiramente superiores aos evidenciados para a maionese de controlo, sugerindo que nestas maioneses a condutividade da água usada tem pouca influência na oxidação. No entanto, é de lembrar que este estudo foi feito em maioneses com EDTA, conhecido pelas suas propriedades quelantes de metais, diminuindo o impacto que a qualidade da água poderia ter no desenvolvimento de peróxidos.

No caso das maioneses *Medium-fat*, os valores de PV da maionese produzida com água tratada foram sempre inferiores aos da maionese de controlo, exceto após 4 meses em que a MAT obteve um PV de 22,46 meq O<sub>2</sub>/kg, enquanto que o controlo obteve 18,63 meq O<sub>2</sub>/kg. De resto, até durante o estudo de envelhecimento acelerado, os valores de PV são inferiores para a maionese com água tratada, como seria de esperar.

Organoleticamente, as maioneses preparadas com água tratada apresentam, em geral, cotação organolética superior às maioneses de controlo, tal como mostrado na Figura 28. Perante a discrepância encontrada entre os resultados de PV e da prova sensorial, parece poder afirmar-se que estes resultados não são conclusivos, sugerindo-se um estudo futuro da influência da qualidade da água no desenvolvimento de ranço em maioneses com e sem antioxidantes, de forma a avaliar o verdadeiro impacto que uma redução na condutividade da água pode ter na qualidade do produto final.

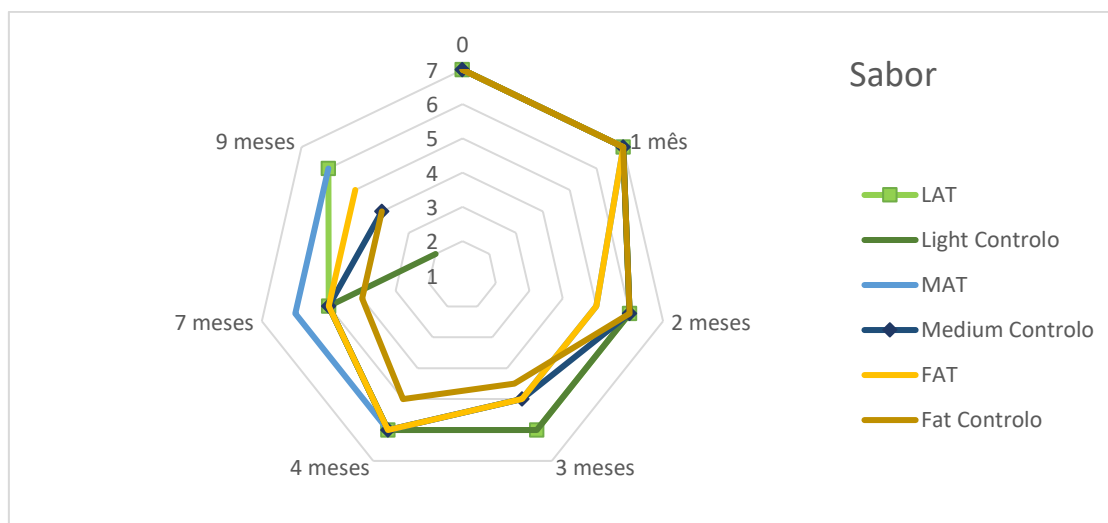


Figura 28 - Representação gráfica dos resultados da avaliação da evolução de sabor em maioneses.

Os resultados das análises físico-químicas, nomeadamente pH, acidez titulável, viscosidade e cor, são apresentados em anexo por não serem significativos para a compreensão do desenvolvimento da oxidação lipídica. Estes resultados não apresentam grandes variações ao longo do tempo, e especialmente, não apresentam variações apreciáveis entre os vários casos, não sendo identificada nenhuma relação entre estes e o desenvolvimento da rancificação.



## 5 Conclusões e Sugestões

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que o desenvolvimento da oxidação lipídica em maioneses depende de vários fatores e que é muito difícil encontrar um antioxidante, principalmente um que seja natural, que seja eficaz em todos os tipos de maioneses.

Em primeiro lugar verificou-se, pelos resultados do Índice de Peróxidos, que maioneses com maior percentagem de óleo estão sujeitas a maior desenvolvimento de ranço, uma vez que, enquanto as maioneses *low-fat* apresentam valores até 80 meq/kg, as maioneses *medium-fat* atingem valores de 140 meq/kg, ao passo que as maioneses *fat* obtém valores na ordem de 200 meq/kg.

No estudo do comportamento de antioxidantes nas maioneses *low-fat* e *medium-fat*, os parâmetros estudados revelam que os antioxidantes que mais permitiram a oxidação lipídica foram os Extratos de Azeitona e o Toco1. Por outro lado, as maioneses com menores valores de produtos de oxidação foram as produzidas com EDTA, Toco2 e Toco1+Extratos de Rosmaninho.

A maionese *low-fat* e *medium-fat* com Toco2 atingiram valores de PV inferiores ao registados com o EDTA, sugerindo que este antioxidante poderá ser uma boa hipótese para substituir o antioxidante sintético nestes tipos de maioneses, necessitando esta hipótese de ser confirmada com mais estudos.

As maioneses *low-fat* e *medium-fat* produzidas com Toco1+extratos de Rosmaninho também conseguiram resultados promissores em alguns parâmetros, sugerindo que os tocoferóis possam ser uma solução para a oxidação lipídica nestas maioneses, desde que acompanhado de elementos com propriedades quelantes e capazes de os regenerar, tal como acontece com o palmitato de ascorbilo no Toco2 e com os Extratos de Rosmaninho na sua combinação com o Toco1.

No entanto, a combinação de tocoferóis com outros componentes complementares (Toco2 e Toco1+Extratos de Rosmaninho) não apresentaram os mesmos resultados positivos em maioneses *fat*, tendo mostrado um fraco desempenho a inibir produtos primários da

oxidação e conduzindo a uma fraca cotação sensorial. Nestas maioneses, o único antioxidante que apresentou resultados positivos foi o EDTA, não se identificando neste trabalho, nenhum antioxidante que se equipare a este. Sugere-se um trabalho futuro que tenha em conta a concentração de tocoferóis a introduzir nestas maioneses, de forma a averiguar se existe uma concentração específica a partir da qual estes antioxidantes deixam de ter um comportamento antioxidante e passam a exercer uma ação pro-oxidante. Um ponto que não foi possível avaliar neste trabalho e que seria aliciante avaliar num trabalho futuro seria o teor de tocoferóis existentes no óleo de girassol utilizado na MG.

Pode concluir-se ainda que, nas maioneses *low-fat* e *fat*, o volume do headspace presente na embalagem tem grande influência no desenvolvimento da rancificação nas maioneses, devendo-se, portanto, dar preferência a um enchimento que permita um mínimo de oxigénio disponível, ou testar a substituição do ar no headspace da embalagem por um gás inerte, como o nitrogénio.

Em relação à temperatura do óleo, os resultados obtidos em alguns casos contrariam a lógica por detrás da oxidação lipídica, sendo por isso necessário efetuar novos testes para atingir conclusões coerentes. Um teste que seria interessante desenvolver seria sujeitar o óleo a temperaturas mais intensas e durante um período de tempo maior do que cinco minutos, uma vez que este tempo pode não ter sido o suficiente para promover a iniciação da reação em cadeia.

O estudo da influência da temperatura da água foi inconclusivo por não se verificarem diferenças apreciáveis entre as maioneses produzidas com água “tratada” e as maioneses de controlo. Uma forma de avaliar a importância que a qualidade da água tem na rancificação seria fazer um estudo semelhante ao efetuado neste trabalho, mas com recurso a outros antioxidantes, com menor capacidade quelante de metais, ou até, sem a adição de qualquer antioxidante.

De forma a melhorar os estudos feitos na MG de vida útil acelerada, sugiro que futuramente se adapte a câmara climática existente atualmente para que este estudo seja feito na presença de luz artificial, mais concretamente luz azul, semelhante à existente nas superfícies comerciais onde os produtos estarão expostos, de forma a ter em conta este fator potenciador de rancificação.

As principais dificuldades encontradas ao longo do estágio prenderam-se com a extração do óleo das maioneses, no entanto, após inúmeras tentativas atingiu-se um método de quebra da emulsão eficaz em quase todos os casos.

Para além da investigação desenvolvida e de modo igualmente relevante, este estágio permitiu-me adquirir muitos conhecimentos de indústria alimentar e de engenharia que contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal. Constatei ainda a importância que um bom acolhimento e um trabalho de equipa têm no desenvolvimento de um trabalho desta natureza e na obtenção de resultados.





## 6 Bibliografia

- A Rancidez Oxidativa em Alimentos. (2010). *Aditivos E Ingredientes*, (72), 31–37. Retrieved from [http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/materias/209.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/209.pdf)
- Agregán, R., Munekata, P. E., Domínguez, R., Carballo, J., Franco, D., & Lorenzo, J. M. (2017). Proximate composition, phenolic content and in vitro antioxidant activity of aqueous extracts of the seaweeds *Ascophyllum nodosum*, *Bifurcaria bifurcata* and *Fucus vesiculosus*. Effect of addition of the extracts on the oxidative stability of canola oil. *Food Research International*, 99, 986–994. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.009>
- Akoh, C. C., & Min, D. B. (Eds.). (2012). *FOOD LIPIDS Chemistry, Nutrition, and Biotechnology Edited* (3<sup>a</sup>). CRC Press.
- Aladedunye, F., & Przybylski, R. (2013). Frying stability of high oleic sunflower oils as affected by composition of tocopherol isomers and linoleic acid content. *Food Chemistry*, 141(3), 2373–2378. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.061>
- Altunkaya, A., Hedegaard, R. V., Harholt, J., Brimer, L., Gökmen, V., & Skibsted, L. H. (2013). Oxidative stability and chemical safety of mayonnaise enriched with grape seed extract. *Food & Function*, 4(11), 1647. <https://doi.org/10.1039/c3fo60204d>
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*, 127(1), 183–198. <https://doi.org/10.1039/b009171p>
- Baratta, M. T., Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Biondi, D. M., & Ruberto, G. (1998). Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidative Activity of Laurel, Sage, Rosemary, Oregano and Coriander Essential Oils. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6), 618–627. <https://doi.org/10.1080/10412905.1998.9700989>
- Barriuso, B., Astiasarán, I., & Ansorena, D. (2013). *A Review of analytical methods - Measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task*. University of Navarra. <https://doi.org/10.13712/j.cnki.dzykt.2014.04.015>

- Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., & Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457–462. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00221-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00221-6)
- Berton-Carabin, C. C., Ropers, M. H., & Genot, C. (2014). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Involvement of the Interfacial Layer. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 945–977. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12097>
- Bordalo, M. J. A. D.-B. (2014). *Avaliação da capacidade antioxidante de extratos naturais de maçã e azeitona usando modelos celulares em monocamada (2D) e agregados (3D)*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, Portugal. Retrieved from <http://recil.grupolusofona.pt/bitstream/handle/10437/5191/Dissertação - Avaliação da Capacidade Antioxidante.pdf?sequence=1>
- Coupland, J. N., & McClements, D. J. (1996). Lipid oxidation in food emulsions. *Trends in Food Science and Technology*, 7(March), 83–91.
- Crison. (2009). PH-Matic 23 - Analizador de pH y acidez en vinos. Retrieved November 1, 2017, from <http://www.crisoninstruments.com/file.php?id=90&lang=es>
- Depree, J. A., & Savage, G. P. (2001). Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12(5–6), 157–163. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00079-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00079-6)
- Duncan, S. E. (2004). Fats: Mayonnaise. In J. S. Smith & Y. H. Hui (Eds.), *Food Processing* (pp. 329–341). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780470290118.ch18>
- Embuscado, M. E. (2015). Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. *Journal of Functional Foods*, 18, 811–819. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.005>
- Etter, S. C. (2005). *Rosmarinus officinalis* as an Antioxidant. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 11(1–2), 121–159. [https://doi.org/10.1300/J044v11n01\\_05](https://doi.org/10.1300/J044v11n01_05)
- FAO. (2017). Emulsified sauces and dips. Retrieved May 11, 2017, from

<http://www.fao.org/gsfaonline/foods/details.html?id=200>

- Frankel, E. N., Huang, S., Kanner, J., & German, J. B. (1994). Interfacial Phenomena in the Evaluation of Antioxidants: Bulk Oils vs Emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(August), 1054–1059. <https://doi.org/10.1021/jf00041a001>
- Gordon, M. H., Paiva-Martins, F., & Almeida, M. (2001). Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2480–2485. <https://doi.org/10.1021/jf000537w>
- Gorji, S. G., Smyth, H. E., Sharma, M., & Fitzgerald, M. (2016). Lipid oxidation in mayonnaise and the role of natural antioxidants: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 56, 88–102. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.002>
- Gray, D. M. (1927). Chemical aspects of mayonnaise. *Oil & Fat Industries*, 4(12), 410–425. <https://doi.org/10.1007/BF02561874>
- Gray, J. I. (1978). Measurement of lipid oxidation: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55(6), 539–546. <https://doi.org/10.1007/BF02668066>
- Griffiths, R. (n.d.). Importance of Oxidative Stability in the Shelf Life of Foods and Ingredients. Reading Scientific Services Ltd.
- Hiemenz, P. C., & Rajagopalan, R. (1997). *Principles of Colloid and Surface Chemistry* (3th ed.). New York, NY: Marcel Dekker, Inc. <https://doi.org/10.1201/9781315274287>
- Honold, P. J., Jacobsen, C., Jónsdóttir, R., Kristinsson, H. G., & Hermund, D. B. (2016). Potential seaweed-based food ingredients to inhibit lipid oxidation in fish-oil-enriched mayonnaise. *European Food Research and Technology*, 242(4), 571–584. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2567-y>
- Hraš, A. R., Hadolin, M., Knez, Ž., & Bauman, D. (2000). Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with ??-tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry*, 71(2), 229–233. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00161-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00161-8)

- Hsieh, Y., & Regenstein, J. O. E. M. (1991). Factors affecting quality of fish oil mayonnaise. *Journal of Food Science*, 56(5), 1298–1301.
- Jacobsen, C. (2016). Oxidative Stability and Shelf Life of Food Emulsions. In *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats* (pp. 287–312). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-63067-056-6.00008-2>
- Jacobsen, C., Adler-Nissen, J., & Meyer, A. S. (1999). Effect of ascorbic acid on iron release from the emulsifier interface and on the oxidative flavor deterioration in fish oil enriched mayonnaise. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 4917–4926. <https://doi.org/10.1021/jf990241u>
- Jacobsen, C., Hartvigsen, K., Lund, P., Adler-Nissen, J., Hølmer, G., & Meyer, A. S. (2000). Oxidation in fish-oil-enriched mayonnaise 2. Assessment of the efficacy of different tocopherol antioxidant systems by discriminant partial least squares regression analysis. *European Food Research and Technology*, 210(4), 242–257. <https://doi.org/10.1007/s002179900070>
- Jacobsen, C., Hartvigsen, K., Lund, P., Meyer, A. S., Adler-Nissen, J., Holstborg, J., & Hølmer, G. (1999). Oxidation in fish-oil-enriched mayonnaise 1. Assessment of propyl gallate as an antioxidant by discriminant partial least squares regression analysis. *European Food Research and Technology*, 210(1), 13–30. <https://doi.org/10.1007/s002170050526>
- Jacobsen, C., Hartvigsen, K., Lund, P., Thomsen, M. K., Skibsted, L. H., Hølmer, G., ... Meyer, A. S. (2001). Oxidation in fish oil-enriched mayonnaise: 4. Effect of tocopherol concentration on oxidative deterioration. *European Food Research and Technology*, 212, 308–318. <https://doi.org/10.1007/s002170000251>
- Jacobsen, C., Let, M. B., Nielsen, N. S., & Meyer, A. S. (2008). Antioxidant strategies for preventing oxidative flavour deterioration of foods enriched with n-3 polyunsaturated lipids: a comparative evaluation. *Trends in Food Science & Technology*, 19(2), 76–93. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.08.001>
- Jacobsen, C., & Sørensen, A. D. M. (2015). The use of antioxidants in the preservation of

- food emulsion systems. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation* (pp. 389–412). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00016-6>
- Kilgore, L. B. (1932). A new method of studying the chemistry of rancidity. *Oil & Soap*, 9(12), 269–271. <https://doi.org/10.1007/BF02543588>
- Kwon, H., Ko, J. H., & Shin, H.-S. (2015). Evaluation of antioxidant activity and oxidative stability of spice-added mayonnaise. *Food Science and Biotechnology*, 24(4), 1285–1292. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0165-1>
- Laguerre, M., Bayrasy, C., Panya, A., Weiss, J., McClements, D. J., Lecomte, J., ... Villeneuve, P. (2015). What Makes Good Antioxidants in Lipid-Based Systems? The Next Theories Beyond the Polar Paradox. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2), 183–201. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.650335>
- Laguerre, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 46(5), 244–282. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2007.05.002>
- Laguerre, M., López Giraldo, L. J., Lecomte, J., Figueroa-Espinoza, M.-C., Baréa, B., Weiss, J., ... Villeneuve, P. (2010). Relationship between Hydrophobicity and Antioxidant Ability of “Phenolipids” in Emulsion: A Parabolic Effect of the Chain Length of Rosmarinate Esters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(5), 2869–2876. <https://doi.org/10.1021/jf904119v>
- Lagunes-Galvez, L., Cuvelier, M.-E., Ordonnoud, C., & Berset, C. (2002). Oxidative stability of some mayonnaise formulations during storage and daylight irradiation. *Journal of Food Lipids*, 9(3), 211–224. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2002.tb00220.x>
- Let, M. B., Jacobsen, C., & Meyer, A. S. (2007). Ascorbyl palmitate, alpha-tocopherol, and EDTA affect lipid oxidation in fish oil enriched salad dressing differently. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2369–2375. <https://doi.org/10.1021/jf062675c>
- Mackson, J. P., & Singh, S. P. (1991). The effect of temperature and vibration on emulsion

- stability of mayonnaise in two different package types. *Packaging Technology and Science*, 4(2), 81–90. <https://doi.org/10.1002/pts.2770040206>
- Mariutti, L. R., & Bragagnolo, N. (2007). Review : Natural Antioxidants from the Lamiaceae Family . Application in Food. *Brazilian Journal of Food Technology*, 10(2), 96–103.
- McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. *Journal of Food Science*, 65(8), 1270–1282. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10596.x>
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1), 73–84. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00288-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00288-0)
- National Institutes of Health. (2016). Butylated Hydroxyanisole. *Report on Carcinogens*, (Fourteen Edition), 8–9. Retrieved from <https://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/roc/index-1.html>
- NP EN ISO 3960:2004, Norma Portuguesa para Óleos e gorduras de origem animal e vegetal - Determinação índice de peróxido § (2004). Lisboa: Instituto Português da Qualidade.
- O'Brien, R. D. (2004). *Fats and oils: Formulating and processing for Applications* (2nd ed.). CRC Press.
- O'Keefe, S. F., & Pike, O. A. (2010). Fat Characterization. In S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (Vol. 25, pp. 239–260). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1>
- Panya, A., Kittipongpittaya, K., Laguerre, M., Bayrasy, C., Lecomte, J., Villeneuve, P., ... Decker, E. A. (2012). Interactions between  $\alpha$ -tocopherol and rosmarinic acid and its alkyl esters in emulsions: synergistic, additive, or antagonistic effect? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(41). <https://doi.org/10.1021/jf302673j>
- Panya, A., Laguerre, M., Bayrasy, C., Lecomte, J., Villeneuve, P., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2012). An Investigation of the Versatile Antioxidant Mechanisms of

- Action of Rosmarinate Alkyl Esters in Oil-in-Water Emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10), 2692–2700. <https://doi.org/10.1021/jf204848b>
- Pavlović, M. D., Pucarević, M., Mićović, V., Zivić, M., Zlatanović, S., Gorjanović, S., & Gvozdenović, J. (2012). Influence of sunflower oil qualities and antioxidants on oxidative stability on whey-based salad dressings. *Acta Chimica Slovenica*, 59(1), 42–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24061171>
- Peng, Y., Yuan, J., Liu, F., & Ye, J. (2005). Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39(3–4), 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.03.033>
- Regulamento (UE) N° 1129/2011 de 11 de novembro, Jornal Oficial da União Europeia § (2011). Comissão Europeia.
- Rosa, A. T. F. . (2016). *A influência das características da água para a estabilidade química, física, microbiológica e sensorial de produtos alimentares*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Química - Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal.
- Saarela, M. (2011). *Functional Foods: Concept to Product* (2nd ed.). Elsevier.
- Sainsbury, J., Grypa, R., Ellingworth, J., Duodu, K. G., & De Kock, H. L. (2016). The effects of antioxidants and shelf life conditions on oxidation markers in a sunflower oil salad dressing emulsion (SOSDE). *Food Chemistry*, 213, 230–237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.081>
- Schaich, K. M. (2005). Lipid Oxidation: Theoretical Aspects. In F. Shahidi (Ed.), *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* (6th ed., Vol. 1, pp. 269–355). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/047167849X.bio067>
- Schaich, K. M. (2016). Analysis of Lipid and Protein Oxidation in Fats, Oils, and Foods. In M. Hu & C. Jacobsen (Eds.), *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats* (pp. 133–156). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-63067-056-6.00002-1>

- Schaich, K. M., Shahidi, F., Zhong, Y., & Eskin, N. A. M. (2013). Lipid Oxidation. In *Biochemistry of Foods* (3rd ed., pp. 419–478). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091809-9.00011-X>
- Shaw, D. J. (1992). Emulsions and foams. In *Introduction to Colloid and Surface Chemistry* (Vol. 232, pp. 262–276). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-050910-5.50014-1>
- Silva, F. A. M., Borges, M. F. M., & Ferreira, M. A. (1999). Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, 22(1), 94–103. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000100016>
- Silva, L. M. (2008). *Determinação da estabilidade de óleos e de compostos com actividade anti-aterosclerótica do azeite durante o processamento de alimentos*. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências - Universidade do Porto, Porto, Portugal. Retrieved from [https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/64173/2/102705\\_QD255-4\\_SILI\\_D\\_2008\\_TM\\_01\\_P.pdf](https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/64173/2/102705_QD255-4_SILI_D_2008_TM_01_P.pdf)
- Smith, J. S., & Hui, Y. H. (Eds.). (2004). *Food Processing: Principles and Applications*. Iowa, USA: Blackwell Publishing. Retrieved from <http://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=gJ6jA7LG-bsC&pgis=1>
- Tasan, M., & Demirci, M. (2005). Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining. *European Food Research and Technology*, 220(3–4), 251–254. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1045-8>
- Wang, T., Jónsdóttir, R., Liu, H., Gu, L., Kristinsson, H. G., Raghavan, S., & Ólafsdóttir, G. (2012). Antioxidant capacities of phlorotannins extracted from the brown algae *Fucus vesiculosus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(23), 5874–5883. <https://doi.org/10.1021/jf3003653>
- White, P. J., & Xing, Y. (1997). Antioxidants from cereals and legumes. In F. Shahidi (Ed.), *Natural Antioxidants: Chemistry, Health, Effects and Applications*. The American Oil Chemists Society. Retrieved from <https://books.google.pt/books?id=9-aZzJxp8DkC&dq=SHAHIDI,+F.+Natural+Antioxidants+->

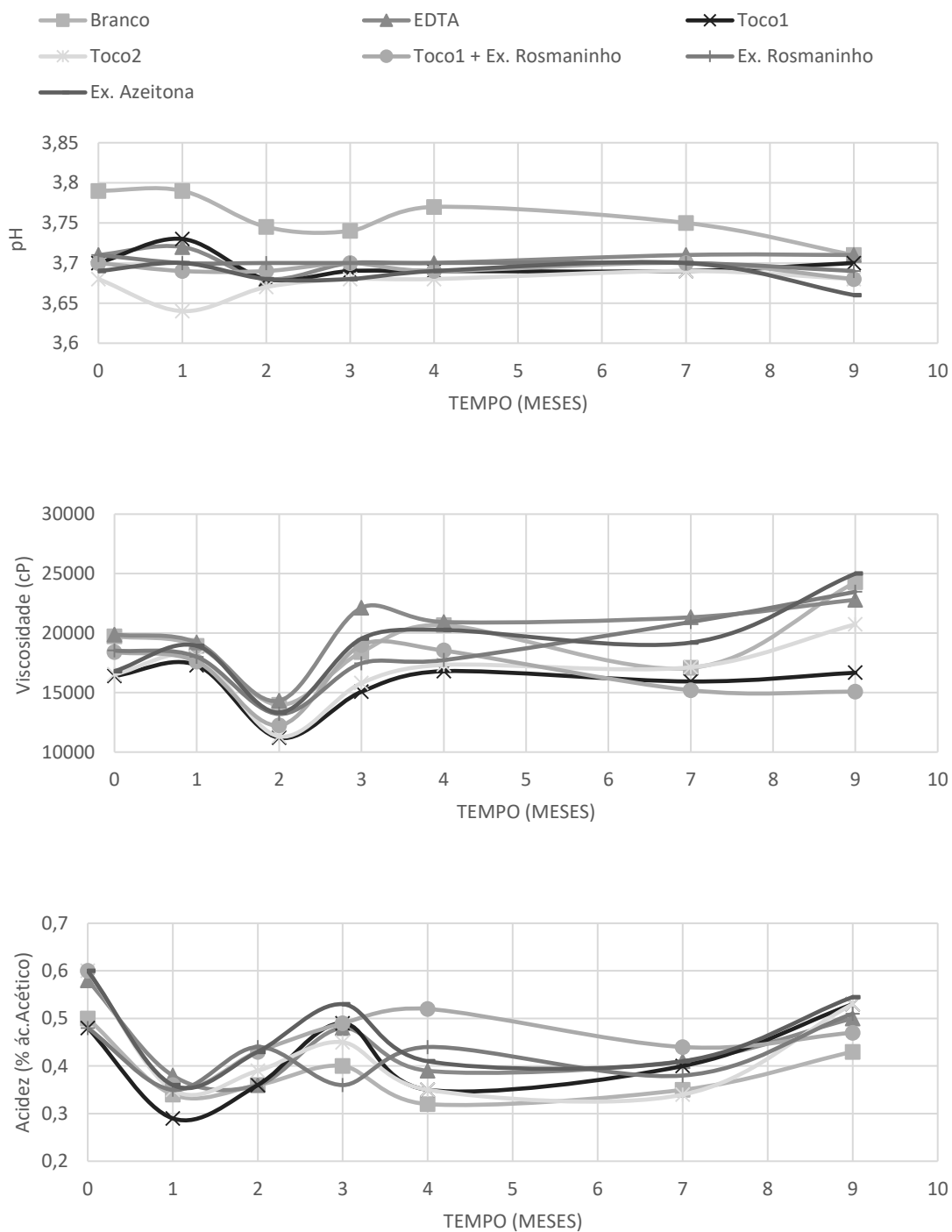


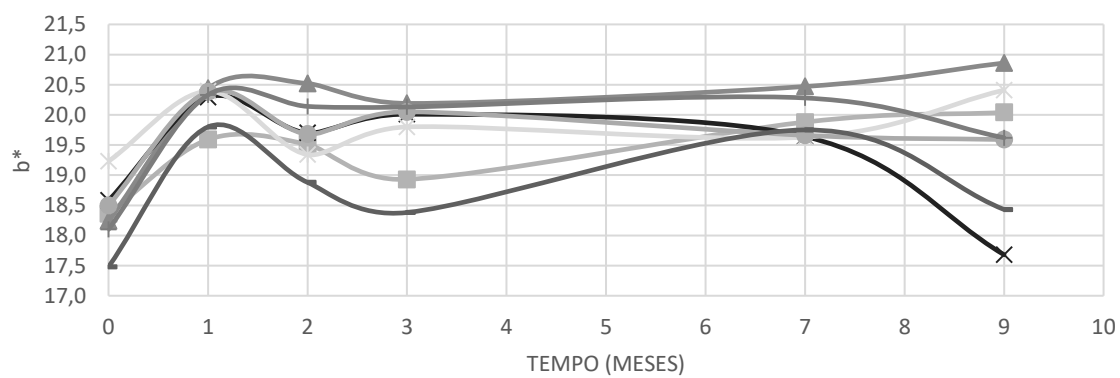
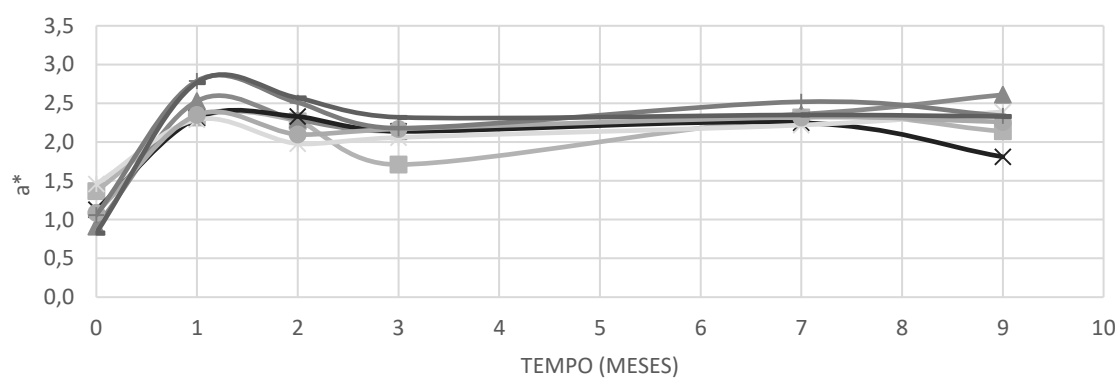
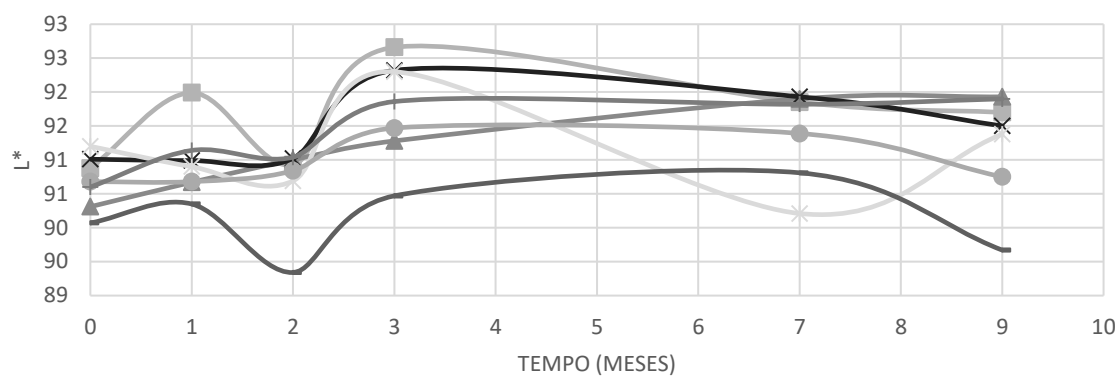
+Chemistry,+Health+Effects+and+Applications&lr=&hl=pt-  
PT&source=gbs\_navlinks\_s



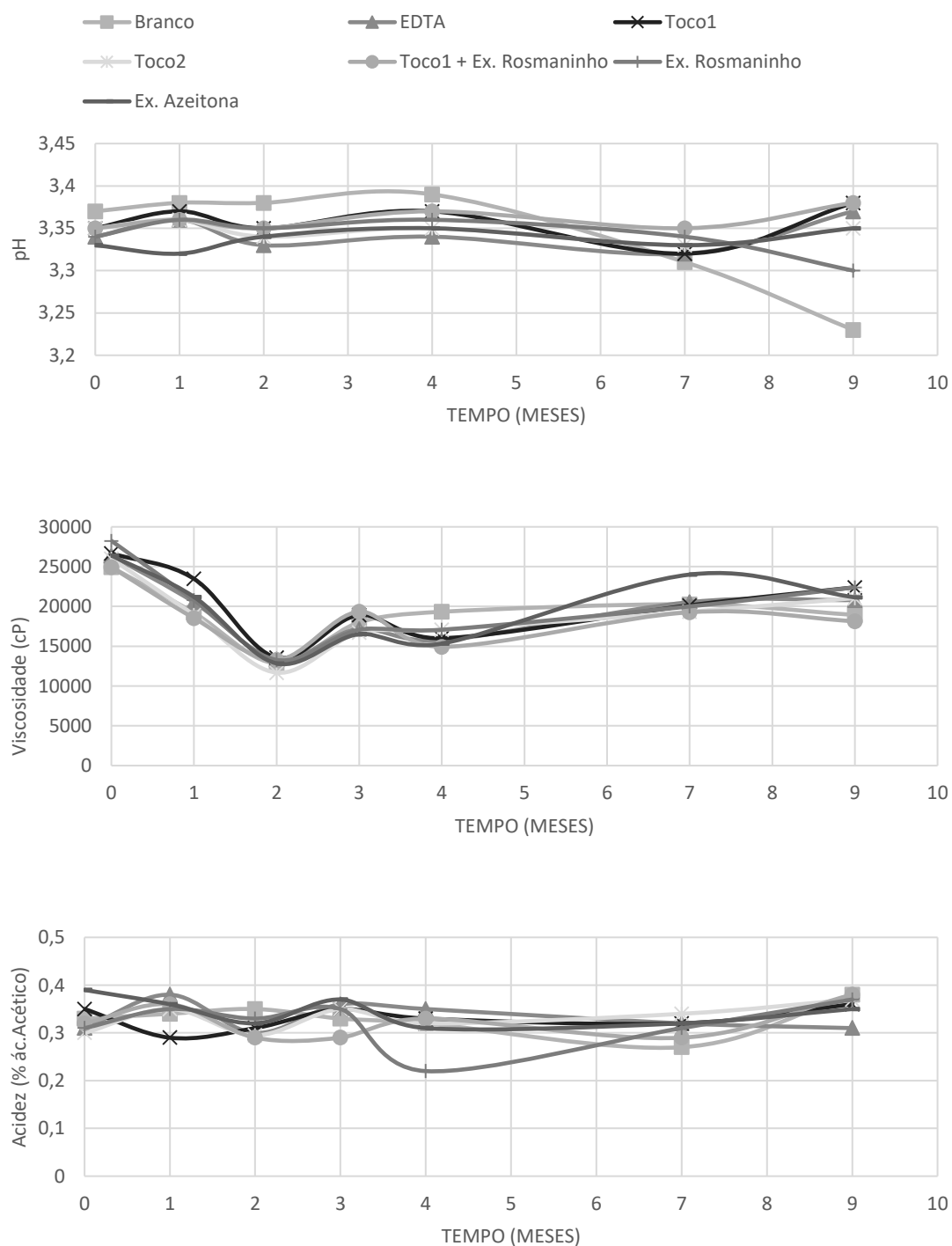
## Anexos

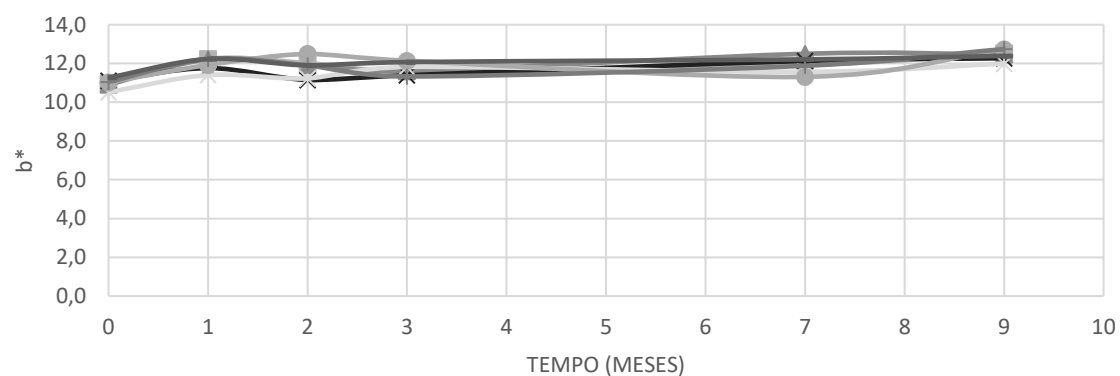
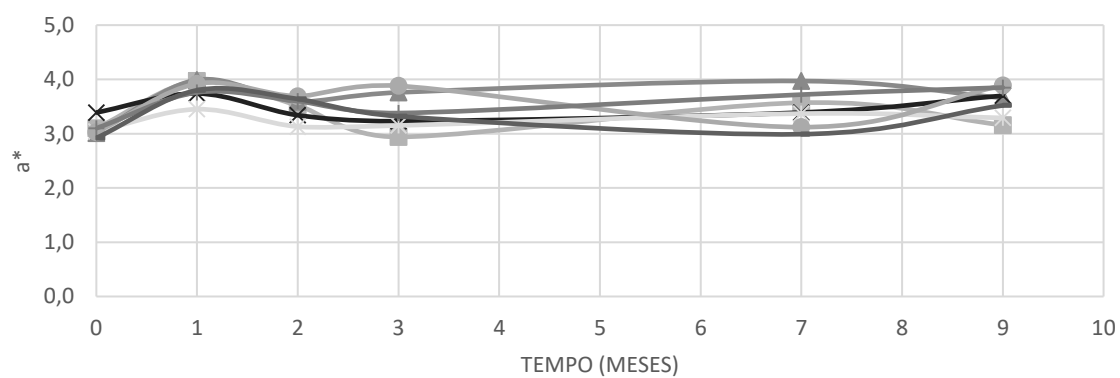
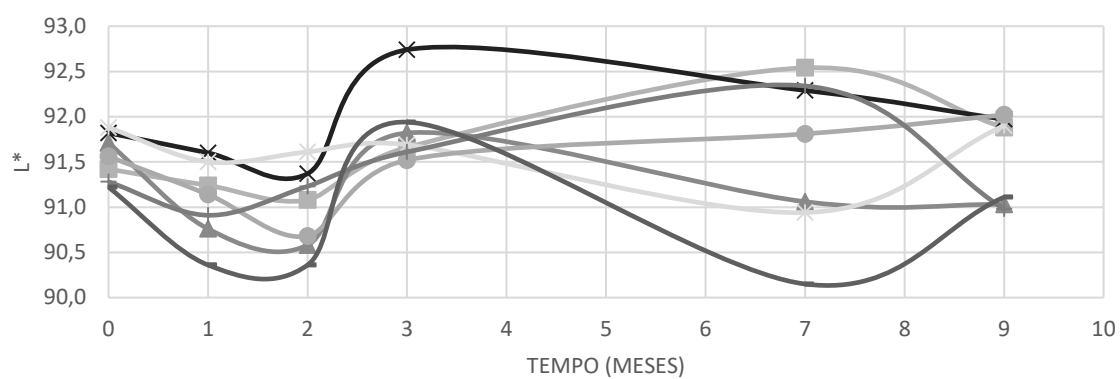
### Anexo I – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses *Low-fat* – Estudo de antioxidantes - LAox



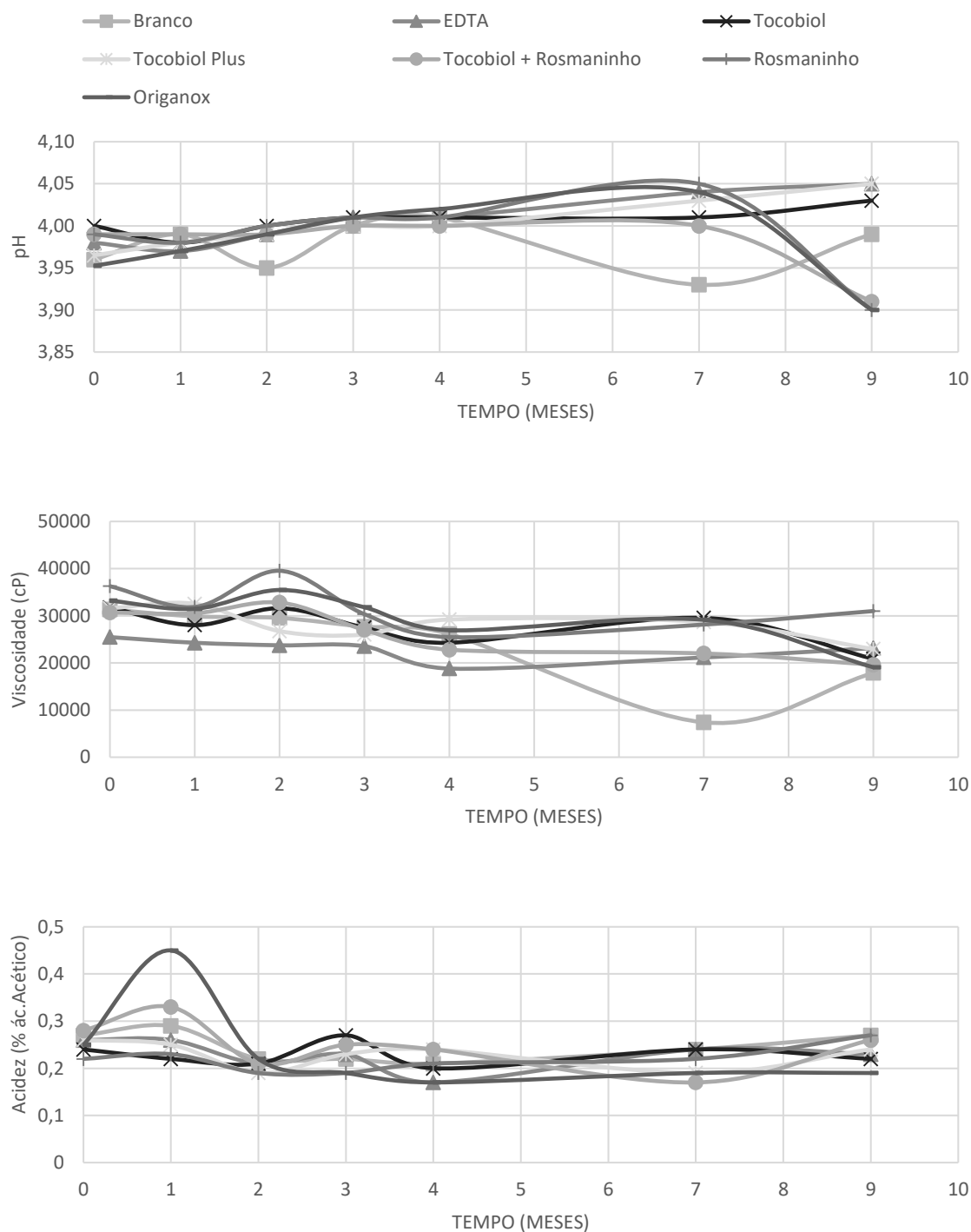


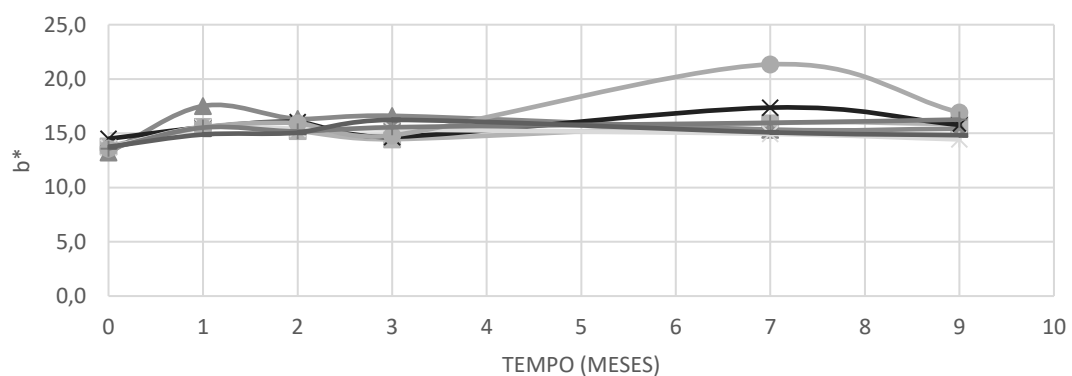
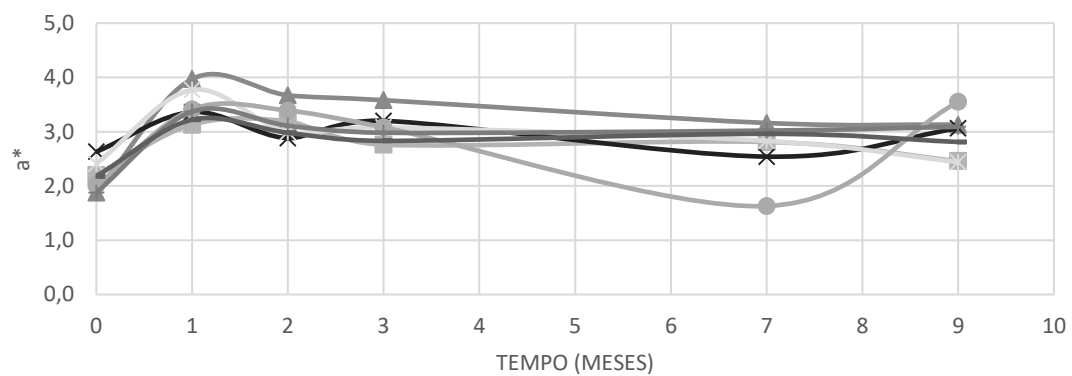
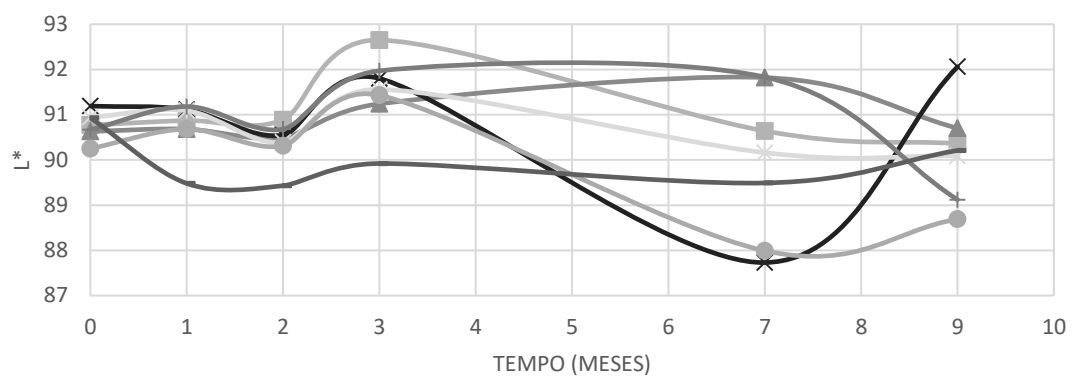
## Anexo II – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses *Medium-fat* - Estudo de antioxidantes - MAox





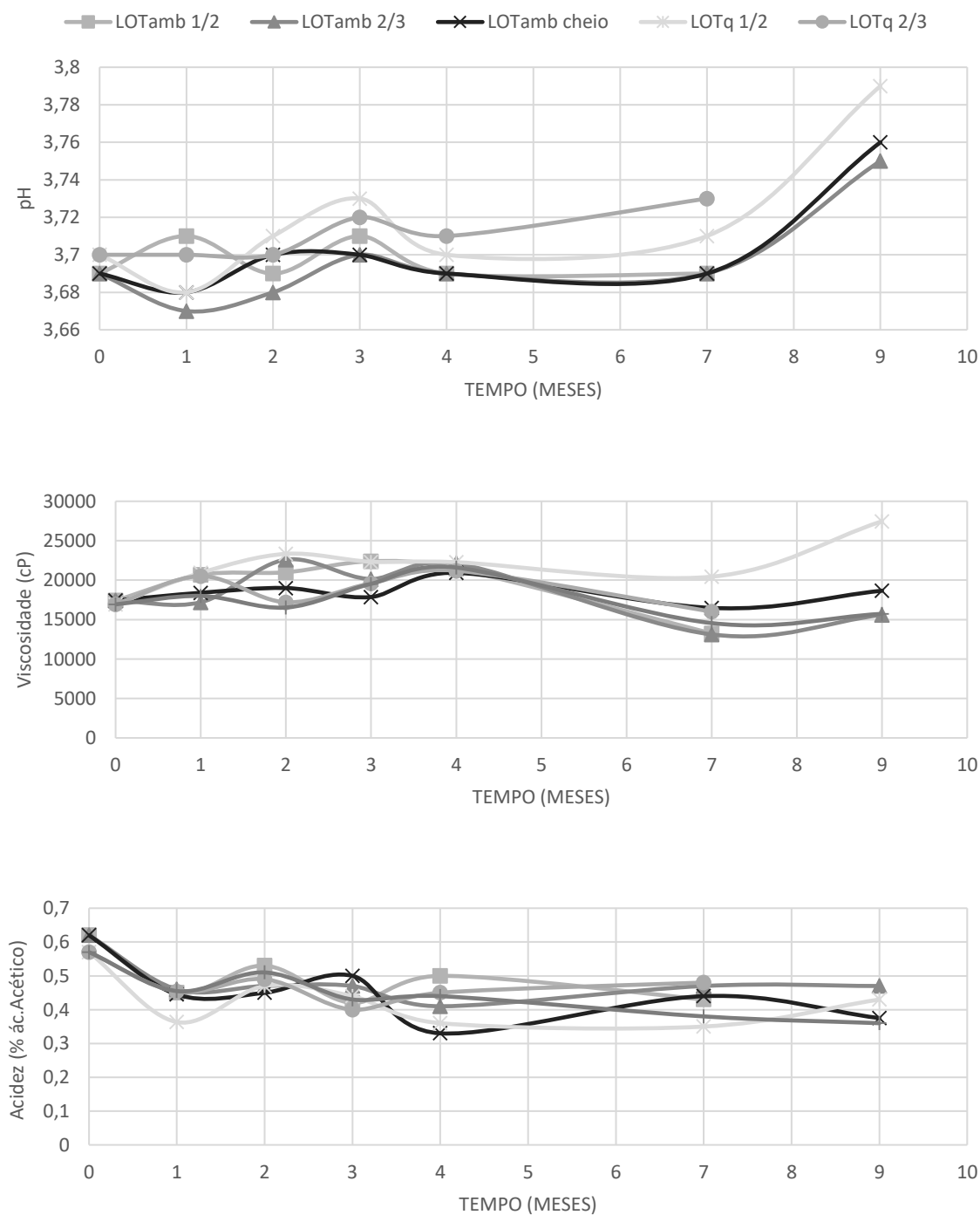
### Anexo III – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses *Fat* – Estudo de antioxidantes - FAox

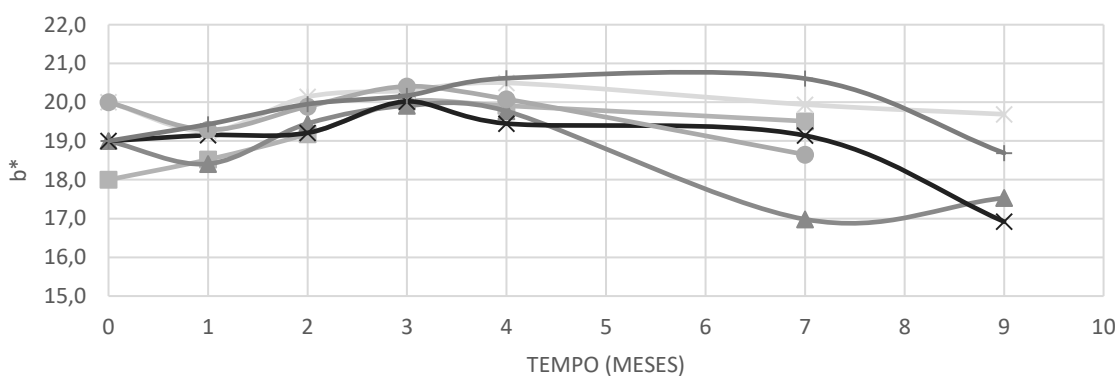
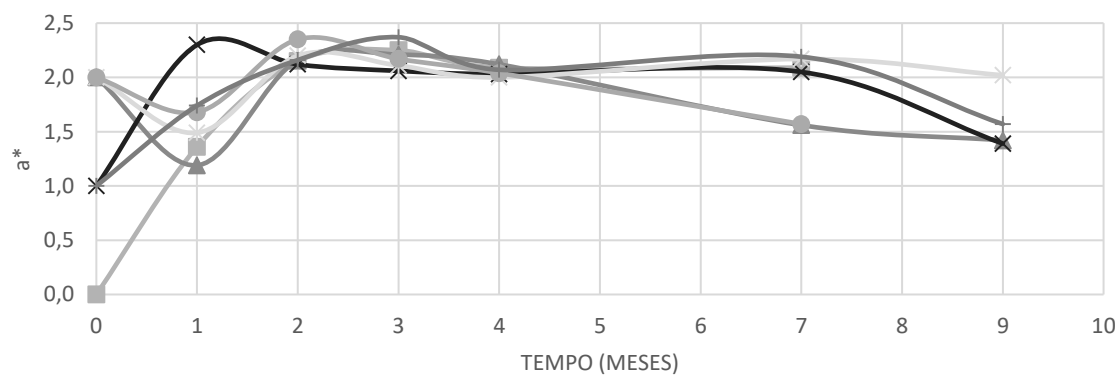
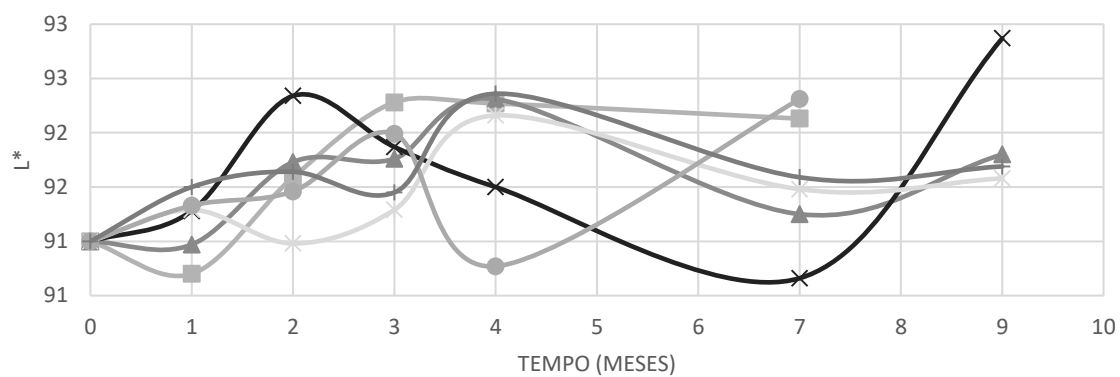






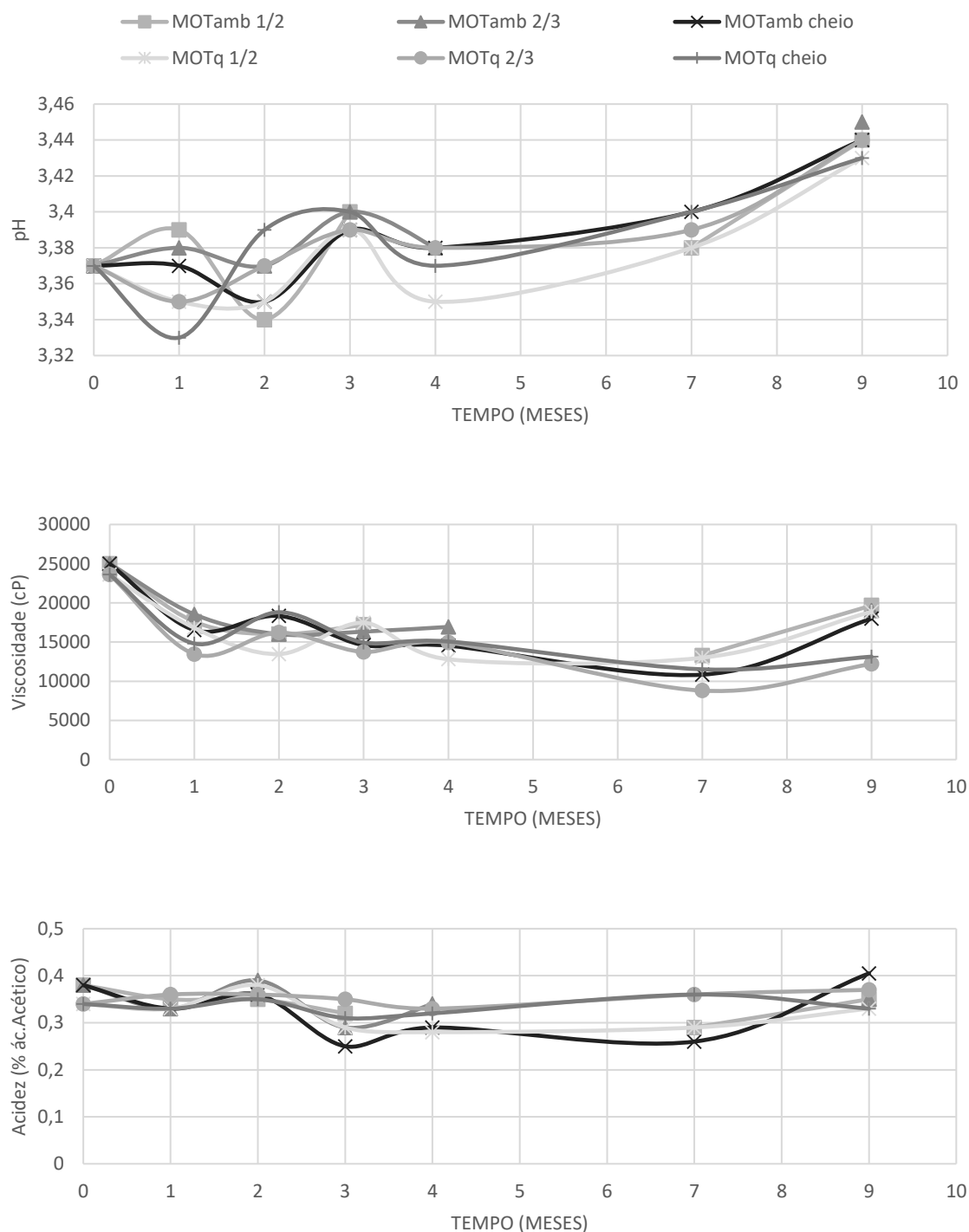
## Anexo IV – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses *Low-fat* – Estudo da temperatura do óleo e headspace - LOT

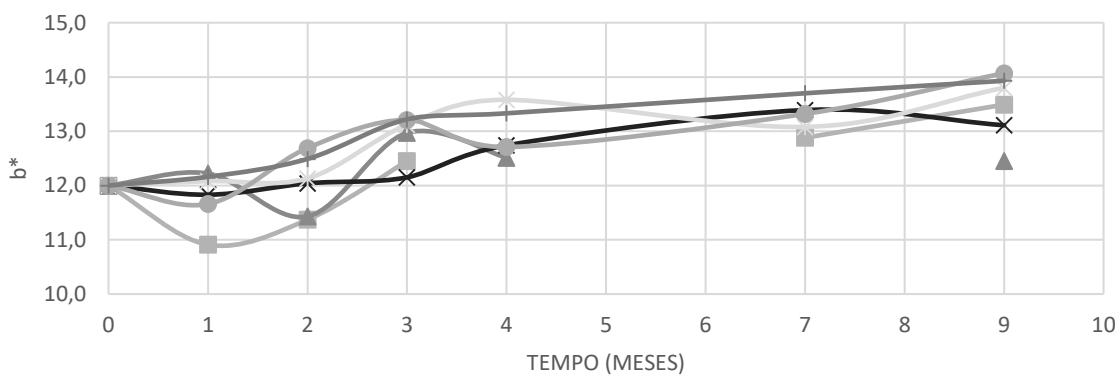
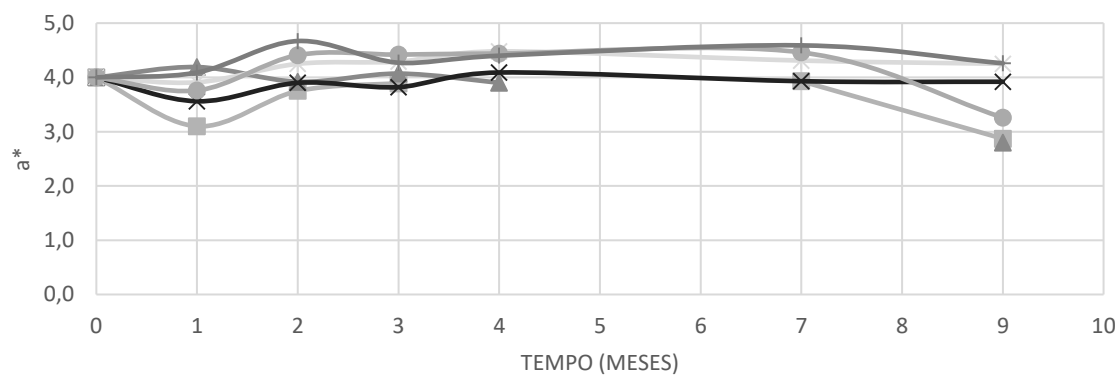
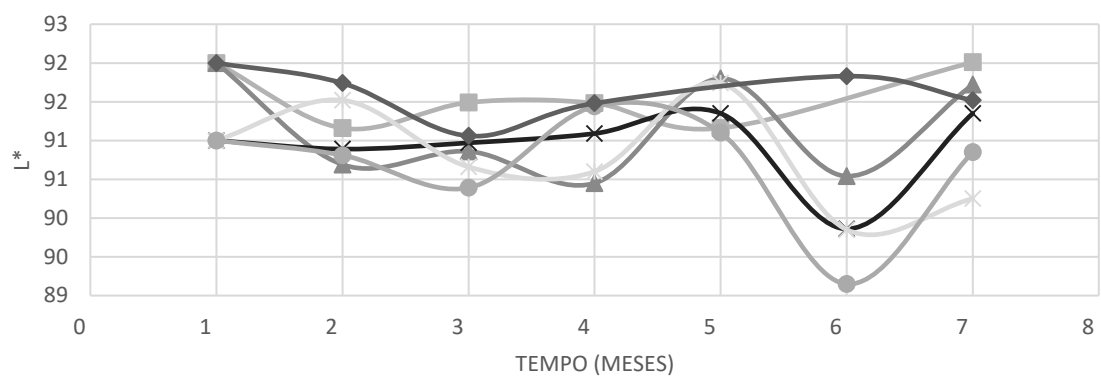




## Anexo V – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses

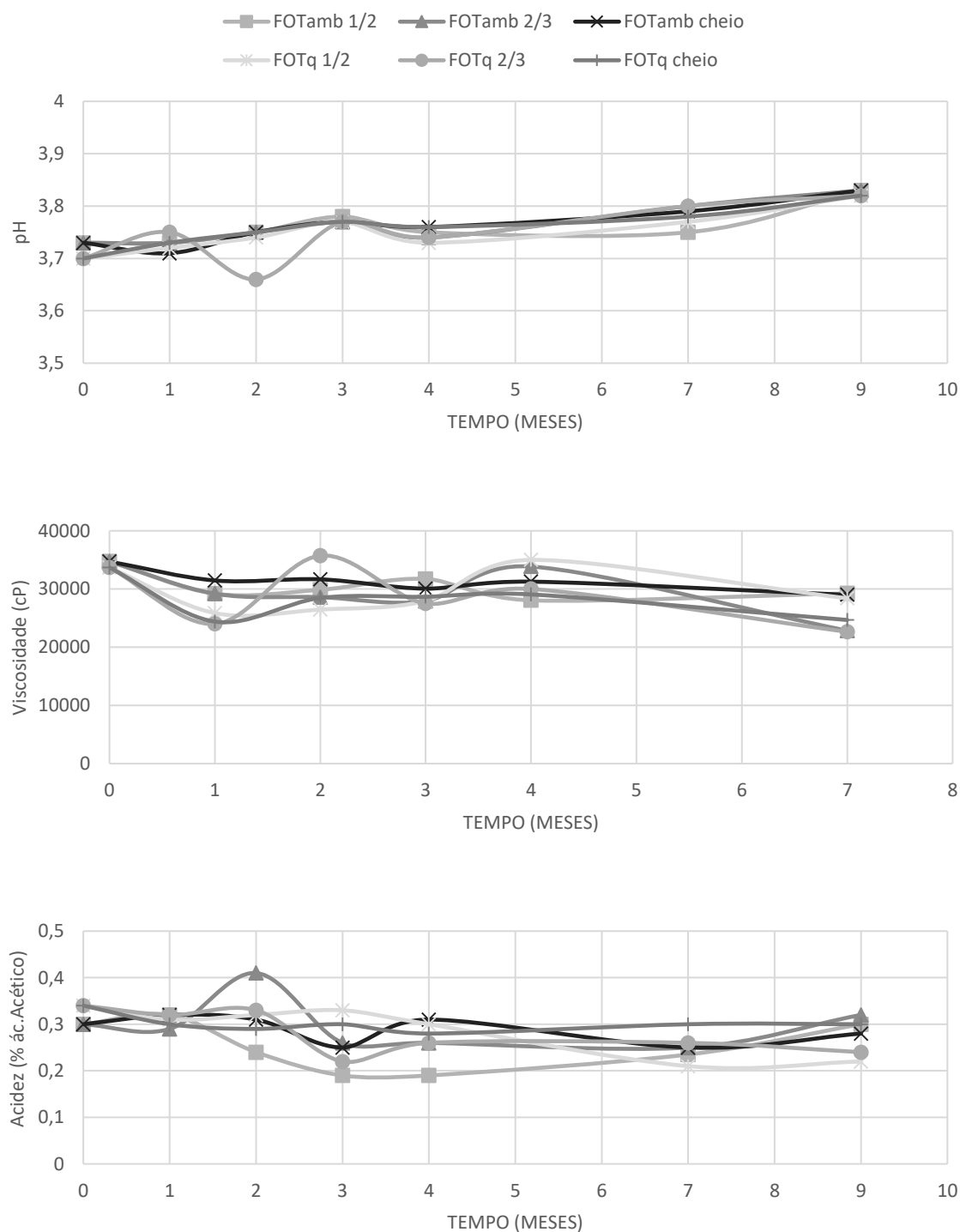
### *Medium-fat* – Estudo da temperatura do óleo e headspace – MOT

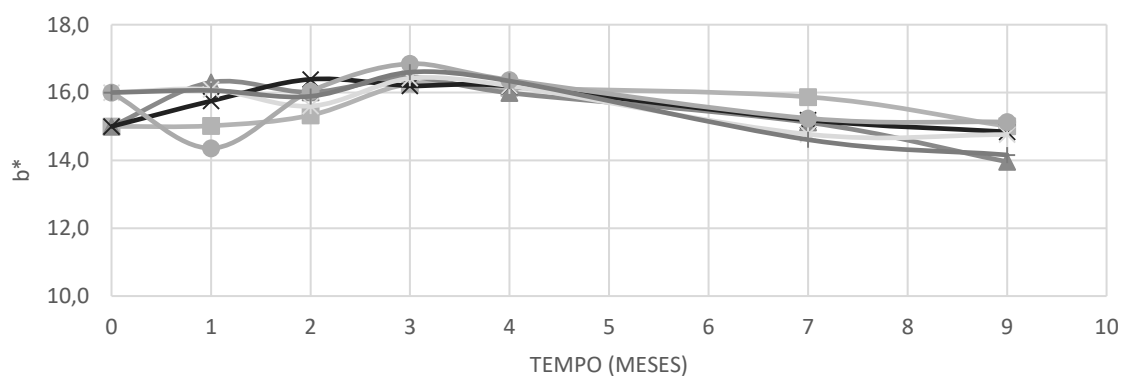
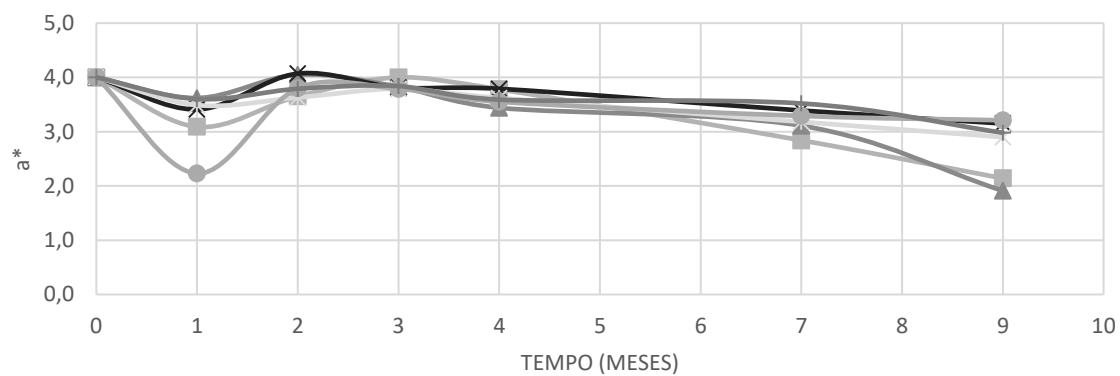
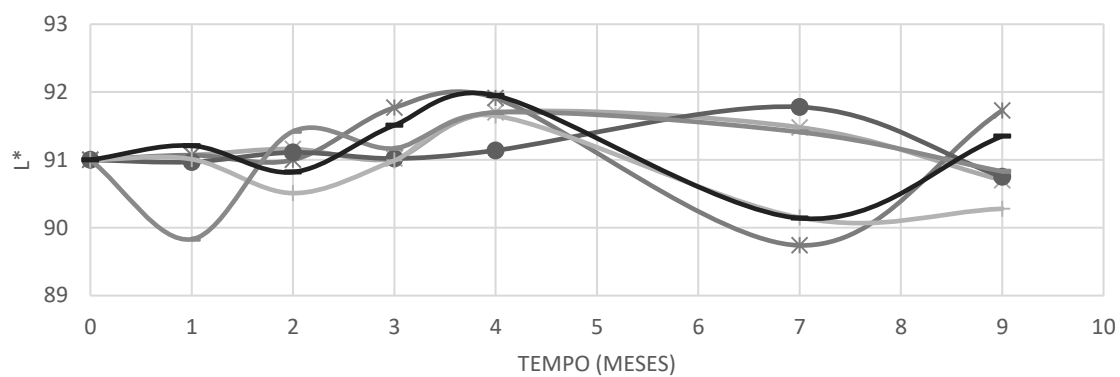




## Anexo VI – Resultados de Análises Físico-químicas para Maioneses *fat*

### – Estudo da temperatura do óleo e headspace – FOT





## Anexo VII – Resultados de Análises Físico-químicas nas Maioneses com Água Tratada

